Untersuchungen über die toxische Wirkung von BAYLUSCID und LEBAYCID auf Ei-, Jugend- und Adultstadien der Buntbarsche Tilapia leucosticta (Trewavas, 1933) und Herotilapia multispinosa (Günther, 1898).

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie

der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

ROBERT PAFLITSCHEK

aus Balingen

1977

Untersuchungen über die toxische Wirkung von BAYLUSCID und LEBAYCID auf Ei-, Jugend- und Adultstadien der Buntbarsche Tilapia leucosticta (Trewavas, 1933) und Herotilapia multispinosa (Günther, 1898).

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie

der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

ROBERT PAFLITSCHEK

aus Balingen

1977

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung	3. 3. 1977
Dekan	Prof. Dr. D. Ammermann
1. Berichterstatter	Prof. Dr. E. Kulzer
2. Berichterstatter	Prof. Dr. F.P. Möhres

Gesamtherstellung: aKu–Fotodruck GmbH, 8600 Bamberg

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung und Fragestellung..... 1

II. Material und Methode..... 3

III. LC - Versuche..... 4

Ergebnisse: 1. Herotilapia multispinosa..... 5
Lebaycid
Bayluscid (WP)

2. Tilapia leucosticta..... 7
Lebaycid
Bayluscid (WP)
Bayluscid (EC)

3. Biologisches Vergiftungsbild..... 10

IV. Langzeitversuche mit Jugendstadien von Tilapia leucosticta..... 13

Ergebnisse: 1. Verhalten und äußeres Erscheinungsbild der Fische..... 14

2. Längenwachstum..... 14

3. Gewichtszunahme..... 16

4. Mortalität..... 19

V. Periodische Einwirkung subletaler Dosen auf adulte Fische..... 21

Ergebnisse: 1. Bayluscid (WP)..... 22
Körperlänge
Gesamtlänge
Körpergewicht

2. Lebaycid..... 24
Körperlänge
Gesamtlänge
Körpergewicht

VI. Tauchversuche mit Eiern und Jugendstadien von Tilapia leucosticta..... 27

Ergebnisse: 1. Bayluscid (WP)..... 28

2. Lebaycid..... 30

3. Krüppelformen..... 32

Seite

4. Röntgenuntersuchungen der verkrüppelten Fische..... 41
5. Verhalten der Krüppeltiere..... 43
6. Aufzucht der F_1- und F_2-Generation von verkrüppelten Fischen..... 44
7. Wachstum der Krüppelformen..... 44
8. Zahl der Krüppelformen und der abgestorbenen Eier bei verschiedenen Pestizid-Konzentrationen..... 46
   Lebaycid
   Bayluscid (WP)

VII. Tauchversuche bei Embryonen mit und ohne Eihülle (Tilapia leucosticta)..... 52

Ergebnisse

VIII. Diskussion..... 55

IX. Zusammenfassung..... 64

X. Literatur..... 66

I. Einleitung und Fragestellung

Die Bekämpfung der Bilharziose, Malaria und Onchocercose erfolgt heute vor allem durch die Vernichtung der Vektoren mit Hilfe von Pestiziden. Von den eingesetzten Substanzen wird die Forderung nach spezifischer Wirksamkeit gegen den Vektor nur teilweise erfüllt. Oft wird eine Allgemeinschädigung der Ökosysteme in Kauf genommen. Dabei kann es zu einem Abbruch der Nahrungsketten, gerade bei den wirtschaftlich wichtigen Nutzfischen, kommen. In Gebieten, in denen die Bevölkerung auf Nutzfische angewiesen ist, können die Folgen des Pestizid-Einsatzes verheerend sein.

Genauere Freilanduntersuchungen über die Auswirkungen der Pestizide auf die natürlichen Ökosysteme wurden bisher kaum durchgeführt. Berichte über Fischsterben bzw. Entvölkerung von Gewässern durch Abwandern der Fische, liegen in einigen Fällen vor (Webbe, 1962; Foster, 1962; Gillet u. Bruaux, 1962; Zusammenfassung bei Gönnert, 1962; Harrison, 1966; Cook u. Moore, 1969; Anderson, 1970; Hulbert, 1975). Danach muß mit Schädigungen der Fischpopulationen fast immer gerechnet werden.
Ganz besonders dringend ist deshalb eine genaue Untersuchung der unmittelbaren Einwirkung der Pestizide auf die in den warmen Ländern wichtigen Nutzfische, vor allem aber die toxischen Auswirkungen auf die Fischbrut und auf die verschiedenen Entwicklungsstadien der Fische. Dies war das Ziel meiner Arbeit.
Für die vorliegende Untersuchung verwendete ich Ei-, Jugend- und Adultstadien von Buntbarschen (Cichlidae), die im Bereich fast aller tropischer Länder mit nahe verwandten Arten wichtige Nutzfische stellen. Die Auswahl der beiden Präparate erfolgte nach praktischen Gesichtspunkten: Lebaycid wurde in den letzten Jahren zur großflächigen Bekämpfung der Larven von Wasserinsekten, Bayluscid zur Bekämpfung von Süßwasserschnecken eingesetzt. Untersuchungen in diesen Gebieten über die Auswirkung auf die Fischbrut gibt es bisher nicht.

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. E. Kulzer danke ich für die Überlassung des Themas, für seine wertvollen Anregungen und für die Bereitstellung von Versuchsräumen und Geräten.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Prof. Dr. H. M. Peters für die Überlassung der Zuchtfische und für die Hinweise zur Haltung und Züchtung von Cichliden.

Danken möchte ich weiterhin Herrn Prof. Dr. W. Harder und Herrn Dr. W. Pfeiffer, die mir bei ichthyologischen Fragen stets zur Seite standen.

Meiner Kollegin Dr. H. van Ackeren danke ich für die Beschaffung der Röntgenbilder und Herrn Dr. H. Erkert für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

II. Material und Methode

Für die Untersuchungen wählte ich die in den ostafrikanischen Gewässern verbreitete Art Tilapia leucosticta (Trewavas, 1933) und die in Mittelamerika lebende Art Herotilapia multispinosa (Günther, 1898). Beide Arten kommen in Gebieten vor, in denen Malaria, Onchocercose und Bilharziose intensiv bekämpft werden. Bei beiden Arten gelang mir die Aufzucht der Jungfische, eine wichtige Voraussetzung für genaue Laboruntersuchungen. Die adulten Tiere wurden in Aquarien verschiedener Größe in Tübinger Leitungswasser bei 25° C gehalten (Wasseranalysen siehe Sigloch, 1976). Der Licht - Dunkelwechsel erfolgte im Rhythmus von 12 : 12 Stunden. Die Becken wurden durch große Kohlefilter sauber gehalten. Die Fische wurden täglich mit Tetramin gefüttert, Jungfische erhielten zusätzlich Larven von Artemia salina. An erwachsene Zuchtfische habe ich noch fein geschnittenes Rinderherz verfüttert.

Bei Tilapia leucosticta entfernte ich jeweils nach Beendigung des Dottersackstadiums die Jungen aus dem Maul der Mutterfische und zog sie in gesonderten Becken auf. Dadurch konnten für die Versuche Fische derselben Alters- und Grössengruppe verwendet werden. Wie von anderen Fischarten bekannt ist, reagieren Fische gleicher Größe, aber verschiedenen Alters auf Pestizide sehr unterschiedlich (Goodman, 1951; Weiss u. Botts, 1957; Mount, 1962; Pickering u. Henderson, 1966).

Die jungen Tilapia leucosticta erreichen nach 50 Tagen im Durchschnitt eine Länge von 25 mm. Geschlechtsreif werden sie erst nach 4 - 5 Monaten mit 50 - 60 mm. Nach einem Jahr beträgt ihre Länge im Mittel 10 cm. Die Jungtiere der Art Herotilapia multispinosa erreichen in 45 Tagen eine Größe von 10 - 13 mm, nach 3 Monaten 20 - 30 mm und nach 4 Monaten 35 - 55 mm. Das Wachstum hängt weitgehend von Nahrungsangebot und Wassertemperatur ab. Alle von mir untersuchten Fische waren durchschnittlich nicht älter als ein Jahr.

Für die folgenden Versuche verwendete ich das Insektizid Lebaycid. Es gehört zur Gruppe der Organophosphate (O,O-Dimethyl-O-(4-methylmercapto-3-methylphenyl)thiophosphat) und dient zur Bekämpfung von saugenden und beißenden Insekten. Das Präparat liegt in mehreren Formulierungen vor; für die Versuche diente das emulgierbare Konzentrat (50 EC). Der Wirkstoffgehalt (Fenthion) ist zu 50 % im Präparat enthalten. Das Mittel hat sich als Larvizid hervorragend bewährt. Weitere Namen für das Insektizid sind: Baytex, Entex, Tiguvon, S-1752, Bayer 29493, ENT 25540, Mercaptophos (Kaemmerer u. Buntenkötter, 1973).

Als zweites Präparat diente das Molluskizid Bayluscid (Bayer 73); hierbei handelt es sich um ein 5,2-dichlor-4-nitro-salycil-anilid-äthanolamin. Ich verwendete die Substanz als emulgierbares Konzentrat (250 EC), mit einem Wirkstoffgehalt von 25 % und als Spritzpulver (WP), mit einem Wirkstoffgehalt von 70 %. Spezielle Methoden zu den einzelnen Versuchen werden an entsprechender Stelle beschrieben.

III. LC - Versuche

Um die toxische Wirkung der beiden Präparate zu erfassen, wurde nach der Methode des statischen Tests (Sprague, 1969 und Mann, 1976) die letalen Konzentrationen (50 %) für beide Fischarten bestimmt. Die ersten Versuche erfolgten bereits unmittelbar nach Beendigung des Dottersackstadiums; anschliessend wurden sie bis zu den Adultstadien ausgedehnt. Die Grössenklassen reichten bei Tilapia leucosticta von 10 - 110 mm, bei Herotilapia multispinosa von 8 - 83 mm. Eine Einteilung der Fische nach Alter und entsprechender Größe habe ich in Abschnitt II. gegeben. Die Fische erhielten 48 Stunden vor Versuchsbeginn kein Futter mehr (entsprechend den Vorschlägen von Doudoroff et al., 1951 und Mann, 1975). In den Versuchsbecken befand sich abgestandenes, gut durchlüftetes Leitungswasser (Gesamthärte 15 °dH, O_2-Gehalt 6 - 7 mg/l, Temp. 25 °C). Die Auswahl der Versuchsfische erfolgte so, daß keine wesentlichen Größenunterschiede innerhalb einer Gruppe bestanden.

Versuchsfische bis 15 mm wurden in 1 l Glasaquarien (12,5 x 7 x 26,5 cm), alle anderen in Vollglasbecken mit 10 l Inhalt (30 x 22 x 24,5 cm) gehalten. Für die Versuche mit Adultstadien (ab 60 mm Länge) wählte ich pro Becken jeweils 5, bei den noch jungen Stadien jeweils 10 Tiere. Die Belüftung der Aquarien erfolgte über Pasteur-Pipetten. Nach 6 - 12 Stunden Anpassungszeit pipettierte ich die Emulsionen - von Lebaycid und Bayluscid (EC) - bzw. die Lösung - von Bayluscid (WP) - aus frischen Emulsionen bzw. Stammlösungen in die Versuchsbecken ein, ohne die Fische zu beunruhigen. Die Einwirkungsdauer betrug 96 Stunden, der eine Nachbeobachtungszeit von 24 Stunden folgte. Während der Versuche erhielten die Fische kein Futter. Entsprechende Kontrollversuche garantierten den einwandfreien Zustand der Versuchstiere. Jeweils nach 24, 48, 72 und 96 Stunden wurde die Zahl der toten Fische ermittelt. Ausfälle wurden sofort entfernt. Die Auswertung der Versuche erfolgte graphisch auf halblogarithmischem Papier oder nach der Probit-Methode (Breitig u. Tümpling, 1970).

Ergebnisse

Bei beiden Arten reagierten die Jugendstadien in allen Versuchen am empfindlichsten auf die Pestizide. Mit zunehmender Größe verringerte sich ihre Empfindlichkeit jedoch wieder.

1. Herotilapia multispinosa

Die 48 h- und 96 h-LC_{50}-Werte für Bayluscid und Lebaycid sind in Beziehung zu den Größenklassen der Fische in Tab. 1 dargestellt.

Lebaycid			Bayluscid (WP)		
Größe(mm)	48h-LC_{50}	96h-LC_{50}	Größe(mm)	48h-LC_{50}	96h-LC_{50}
8 - 15	3,2	3,0	10 - 20	0,59	0,55
15 - 20	3,9	3,6	15 - 20	0,66	0,63
15 - 22	3,5	2,8	25 - 30	0,66	0,62
15 - 28	4,0	3,7	30 - 40	0,89	0,88
20 - 25	6,75	6,6	35 - 40	0,73	0,73
25 - 30	8,8	8,5	45 - 55	0,74	0,72
25 - 30	11,0	10,7	48 - 55	0,73	0,70
35 - 40	8,3	7,2	60 - 70	0,95	0,95
35 - 45	10,0	9,5	75 - 83	0,79	0,78
50 - 60	14,4	12,3			
60 - 70	13,4	12,8			

Tab. 1: 48 h- und 96 h-LC_{50}-Werte der Präparate Lebaycid und Bayluscid (WP) (in ppm) bei Herotilapia multispinosa (8 - 83 mm).

Lebaycid: Die Größenklassen der Versuchsfische umfaßten Tiere von 8 - 70 mm. Mit zunehmender Größe steigen die 96 h-LC_{50}-Werte von 2,8 ppm auf 12,8 ppm an (Abb. 1).

Bayluscid (WP): Auch hier nehmen die LC_{50}-Werte mit der Größe deutlich zu (Abb. 2). Am empfindlichsten reagieren die 10 - 20 mm großen Jungtiere. Bereits bei 0,55 ppm tritt eine 50 %ige Verlustquote auf. Bei 60 - 70 mm Gesamtlänge beträgt der LC_{50}-Wert 0,95 ppm, bei 75 - 83 mm nur noch 0,78 ppm.

Diese Versuche zeigen ferner, daß Fische von annähernd gleicher Größe auch unterschiedlich reagieren können. Im Gegensatz zu Lebaycid wirkt Bayluscid (WP) sehr viel toxischer. Setzt man die LC_{50}-Werte in Beziehung zu den Größenklassen, so reicht die Spanne bei Bayluscid (WP) von 0,55 ppm - 0,78 ppm, bei Lebaycid dagegen von 2,8 ppm - 12,8 ppm.

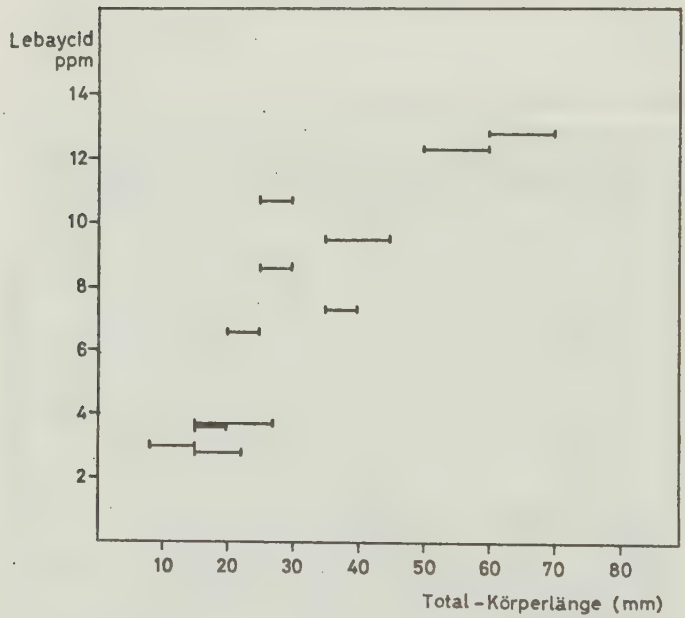


Abb. 1: 96 h-LC_{50}-Werte für Lebaycid bei Herotilapia multispinosa. Die Balken umfassen jeweils einen Versuch mit mindestens 4 Konzentrationsstufen, wobei in jeder Stufe wenigstens 10 Tiere getestet wurden. Die Balkenlänge gibt die Größe der Versuchsfische an.

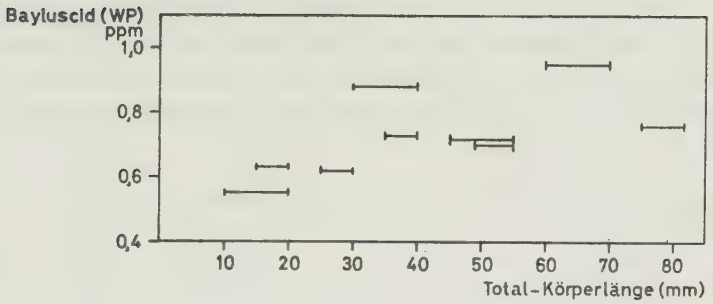


Abb. 2: 96 h-LC_{50}-Werte für Bayluscid (WP) bei Herotilapia multispinosa. Bez. wie in Abb. 1.

2. Tilapia leucosticta

Alle LC_{50}-Werte sind in Beziehung zu den Größenklassen der Fische in Tab. 2 dargestellt.

Lebaycid			Bayluscid (WP)			Bayluscid (EC)		
Größe(mm)	48h-LC_{50}	96h-LC_{50}	Größe(mm)	48h-LC_{50}	96h-LC_{50}	Größe(mm)	48h-LC_{50}	96h-LC_{50}
10 - 15	4,1	3,6	10 - 11	0,43	0,39	10 - 11	0,90	0,90
10 - 15	3,8	2,0	10 - 15	0,40	0,24	10 - 13	0,80	0,80
10 - 15	3,7	3,0	10 - 15	0,50	0,30	11 - 12	0,86	0,76
15 - 20	4,75	3,5	15 - 20	0,59	0,49	18 - 21	1,00	0,96
15 - 20	4,5	3,6	18 - 22	0,44	0,43	25 - 30	1,03	1,02
18 - 22	5,1	4,2	18 - 22	0,46	0,45	25 - 30	0,95	0,95
20 - 23	5,6	5,3	25 - 30	0,69	0,62	38 - 45	1,12	1,10
20 - 25	5,9	5,5	34 - 38	0,73	0,73	55 - 60	1,50	1,25
25 - 30	6,3	6,1	35 - 40	0,53	0,51	55 - 60	1,29	1,29
25 - 30	7,3	7,2	35 - 40	0,59	0,59	65 - 75	1,32	1,30
30 - 35	7,85	7,55	35 - 40	0,83	0,70	80 - 90	1,55	1,55
32 - 38	7,9	7,5	45 - 50	0,96	0,83	80 - 90	1,40	1,40
40 - 45	11,5	11,5	60 - 70	0,80	0,80	85 - 95	1,62	1,60
45 - 55	15,5	15,05	80 - 90	0,88	0,85			
48 - 55	14,8	14,5						
50 - 60	15,1	14,95						
70 - 80	16,8	17,0						
70 - 80	18,0	18,0						
90 - 100	18,5	19,0						
100 - 110	20,0	20,3						
100 - 110	20,2	19,7						

Tab. 2: 48 h- und 96 h-LC_{50}-Werte der Präparate Lebaycid, Bayluscid (WP) und Bayluscid (EC) bei Tilapia leucosticta in ppm.

Lebaycid: Unter den jüngsten Versuchstieren (10,0 - 15,0 mm) gab es bei einer Konzentration von 2 ppm 50 % tödliche Ausfälle. Bei den adulten Fischen sank die Empfindlichkeit erheblich, im Extremfall bis 20,3 ppm. Hier ist offenbar ein Grenzwert erreicht. Die Empfindlichkeit gegenüber Lebaycid erniedrigt sich demnach im Verlauf der Jugendentwicklung um den Faktor 10 (Abb. 3).

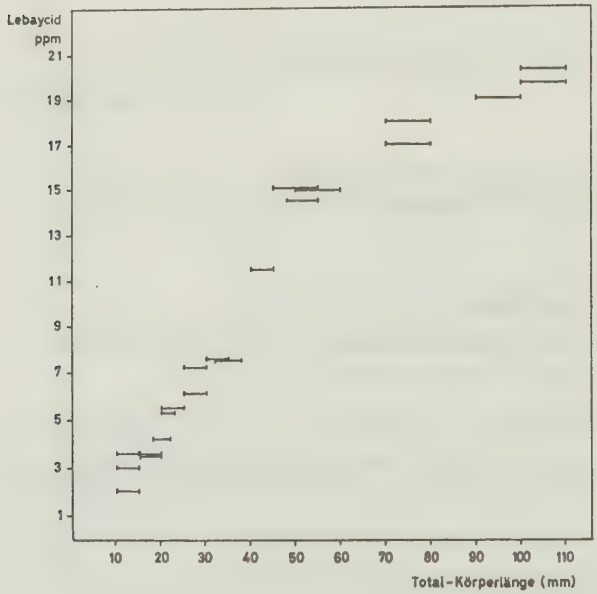


Abb. 3: 96 h-LC_{50}-Werte für Lebaycid bei Tilapia leucosticta. Bez. wie in Abb. 1.

Bayluscid (WP): Der niedrigste LC_{50}-Wert wurde bei Fischen von 10 - 15 mm Gesamtlänge ermittelt; er beträgt 0,24 ppm und steigt bei den 80 - 90 mm langen Fischen bis auf 0,85 ppm an. Auch hier liegt ein Grenzwert vor, der nicht mehr überschritten wird. Die Wirksamkeit der Substanz verändert sich während der Jugendentwicklung um über das 3-fache (Abb. 4).

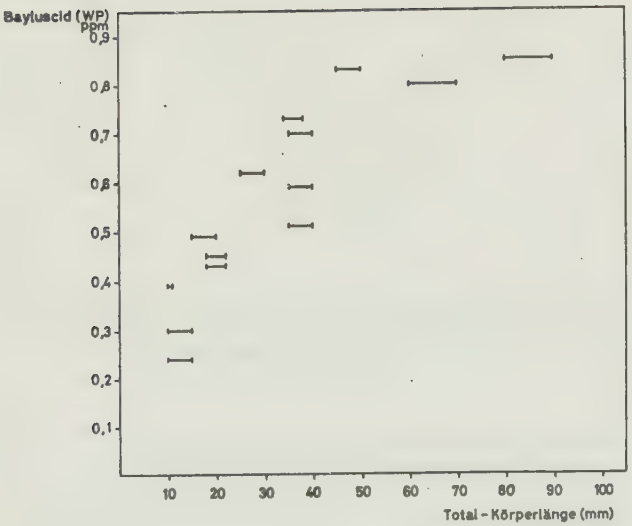


Abb. 4: 96 h-LC_{50}-Werte für Bayluscid (WP) bei Tilapia leucosticta. Bez. wie in Abb. 1.

Bayluscid (EC): Das emulgierbare Konzentrat mit nur 25 % Wirkstoffanteil ließ im Gegensatz zum Spritzpulver (70 % Wirkstoffanteil) höhere LC_{50}-Werte erwarten. In den vorliegenden Versuchen beträgt der niedrigste Wert 0,76 ppm (Länge der Fische 11 - 12 mm), der höchste Wert 1,6 ppm (bei 85 - 95 mm). Die Letalkonzentrationen sind demnach bei flüssigem Bayluscid etwa 2 - 3 mal höher als bei Spritzpulver und nehmen während der Jugendentwicklung um das 2-fache zu (Abb. 5).

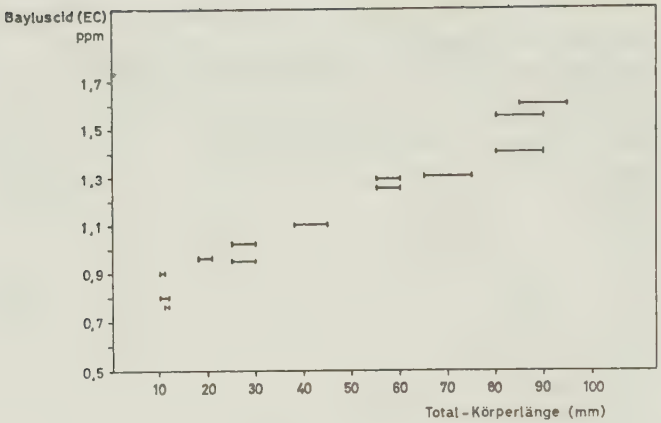


Abb. 5: 96 h-LC_{50}-Werte für Bayluscid (EC) bei Tilapia leucosticta. Bez. wie in Abb. 1.

3. Biologisches Vergiftungsbild

Lebaycid-Konzentrationen bis 50 % unter den LC_{50}-Werten führten nach etwa 30 Minuten bei den sonst ruhig im Wasser "stehenden" Fischen zu raschem Umherschwimmen. Ihre Atemfrequenz war deutlich erhöht. Auf Erschütterungsreize reagierten sie mit ziellosem Umherschießen im Becken. Häufig traten krampfartige Verkrümmungen der Schwanzregion auf.

Lebaycid-Konzentrationen in Höhe der LC_{50}-Werte führten rasch zu Gleichgewichtsstörungen. Dabei torkelten die Fische oder kippten aus der Normallage seitlich um. Schließlich sanken sie zu Boden und verharrten dort regungslos oder führten zuckende Bewegungen aus. Wiederholt standen sie schräg zum Boden (im Winkel von 45°) und führten Rotationsbewegungen aus (Abb. 6). Erst nach einigen Stunden erholten sich die Fische und zeigten wieder normales Verhalten. Die Färbung des Körpers war bei den Versuchsfischen intensiver als bei den Kontrollen.

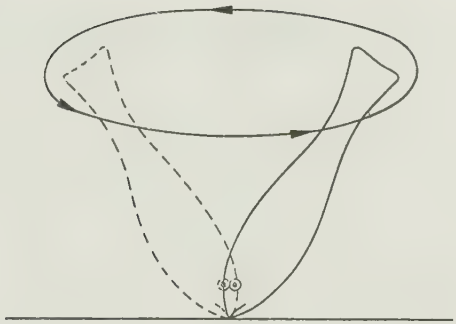


Abb. 6: Typisches Vergiftungsbild nach Einwirkung akuter Lebaycid-Konzentrationen bei Tilapia leucosticta und Herotilapia multispinosa.

Lebaycid-Konzentrationen bis 50 % über den LC_{50}-Werten (und noch höher) verursachten zuerst ebenfalls Unruhe. Die Fische sanken dann in Seitenlage zu Boden und schossen immer wieder zur Wasseroberfläche empor, um Luft zu schnappen. Erschütterungsreize wurden kaum noch beantwortet. Am Boden liegende Fische zuckten zunächst heftig, stellten dann aber alle Bewegungen ein und starben. Ihr Mund war weit geöffnet, und ihre Kiemendeckel stark abgespreizt; Kiemen und Kiemenregion waren dunkelrot gefärbt.

Die Vergiftung mit Bayluscid (WP) (Konzentration von 30 - 50 % der LC_{50}-Werte) führten lediglich zu Unruhe. Auf Erschütterungsreize erfolgten unkoordinierte Schwimmbewegungen. Konzentrationen, die dem LC_{50}-Wert entsprechen, führten wieder zu torkelndem Schwimmen; die Fische kippten seitlich um, sanken zu Boden und verendeten. Bei Konzentrationen bis 50 % über den LC_{50}-Werten (und höher) kippten die Fische wiederum zur Seite. Danach bewegten sie sich unter starkem Körperzittern in typischer Weise: Sie drehten sich wie Kreisel oder rotierten auf der Stelle (Abb. 7).

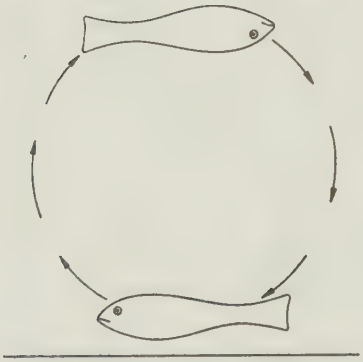


Abb. 7: Rotationsbewegung nach akuter Bayluscid-vergiftung bei Tilapia leucosticta und Herotilapia multispinosa.

Häufig schossen sie zur Wasseroberfläche empor oder noch darüber hinaus und führten Luftsprünge aus. Nach dieser unkoordinierten Bewegungsphase sanken sie zu Boden und konnten sich nur noch mit kräftigen Schwanzschlägen vorwärts bewegen. Die schnelle Atmung ging jetzt in eine Stoßatmung über. Nach einer Phase der Bewegungslosigkeit trat der Tod ein. Die toten Fische hatten den Mund weit gesperrt und die Kiemen waren dunkelrot gefärbt.

IV. Langzeitversuche mit Jugendstadien von Tilapia leucosticta

Die Bestimmung der letalen Konzentrationen gab Aufschluß über die unmittelbare Giftwirkung der Pestizide. Als Kriterium diente dabei der tödliche Ausgang der Versuche. Noch wichtiger aber für die Beurteilung der verwendeten Substanzen ist die Wirkung von subletalen Dosen, denen die Fischpopulationen (mit Individuen aller Altersklassen) bei wiederholtem Einsatz der Pestizide auch langfristig ausgesetzt sind. Nach den vorausgegangenen Versuchen war klar, daß davon die Jugendstadien am schwersten betroffen sind. Ich verwendete daher für die "Langzeitversuche" nur 3 - 4 Wochen alte Tilapien. Bei ihnen zeigt sich der Wachstumsschub noch besonders deutlich; eine Schädigung durch subletale Substanzen konnte sich auf die Entwicklung der Jungfische auswirken.

Für die folgenden Versuche wurden 3 Vollglasbecken (10 l) mit jeweils 50 Tilapia leucosticta besetzt (mittlere Größe der Fische 13,3 - 13,8 mm, Wassertemperatur 25°C, Licht - Dunkel 12:12 Stunden) und über Pasteur-Pipetten belüftet. Die Becken waren so abgedeckt, daß die Fische durch optische Reize nicht erschreckt werden konnten. Zu Beginn der Versuche wurde mit der Schieblehre die Gesamtlänge und mit Hilfe der Analysenwaage das Gewicht der einzelnen Tiere ermittelt. Jeden 4. Tag setzte ich sie in neue Becken um. Einen Tag davor wurden sie mit Tetramin gefüttert. Im 1. Becken waren die Fische einer Konzentration von 0,15 ppm Bayluscid (WP), im 2. Becken 1,0 ppm Lebaycid (= 33,3 % bzw. 34,4 % der entsprechenden 96 h-LC_{50}-Werte) ausgesetzt. Becken 3 diente als Kontrolle. Die Substanzen wurden an jedem 4. Tag mit dem Wechsel des Beckens erneuert. Tote Tiere wurden sofort entfernt. In Abständen von 10 - 14 Tagen habe ich die Fische gemessen und gewogen. Dazu wurden sie vorsichtig mit dem Netz gefangen und anschließend sofort wieder ins Wasser zurückgebracht. Nach Berechnung der Mittel- und Extremwerte und der Standardabweichung führte ich den t-Test nach Student durch; einbezogen wurde ferner der 95 %-Vertrauensbereich (confidence limit) (Cavalli-Sforza, 1969). Die Langzeitversuche dauerten 63 Tage.

Ergebnisse

1. Verhalten und äußeres Erscheinungsbild der Fische

Schon nach einer Woche zeigten die Versuchsfische unterschiedliches Verhalten. Die dem Lebaycid ausgesetzten Tiere waren auffallend träge und schwammen nur zögernd und langsam. Ihr Appetit ließ deutlich nach; in den Becken blieben Futterreste zurück. Die Kontrollen und die dem Bayluscid (WP) ausgesetzten Fische verhielten sich dagegen völlig normal. Sie holten sich alles Futter schon an der Wasseroberfläche und hinterließen keine Futterreste. Auch ihre Schwimmbewegungen waren normal. Die dem Lebaycid ausgesetzten Versuchsfische waren ausnahmslos dunkler gefärbt als die Fische der beiden anderen Gruppen.

2. Längenwachstum

Das Längenwachstum aller 3 Gruppen ist in Tabelle 3 eingetragen und in Abb. 8 graphisch dargestellt. Die Ausgangswerte der Lebaycid- und Bayluscid-Gruppe und der Kontroll-Tiere liegen mit 13,6 mm, 13,8 mm und 13,3 mm noch eng beeinander. Nach der ersten Woche ergeben die Mittelwerte bereits einen Längenunterschied zwischen der Lebaycid-Gruppe und den Kontrollen von 1,0 mm und zwischen der Bayluscid-Gruppe und den Kontrollen von 0,1 mm. Die schon nach einer Woche signifikante Differenz ($t_{25} = 4{,}18$; $p < 0{,}001$) zwischen den Lebaycid-Fischen und den Kontrollen wird bis Versuchsende noch größer. Nach Beendigung der Versuche (63. Tag) beträgt der Größenunterschied zwischen den Lebaycid-Fischen und den Kontrollen 3,7 mm, zwischen den Bayluscid-Fischen und den Kontrollen jedoch nur 0,4 mm. In den 9 Versuchswochen sind die Lebaycid-Tiere im Mittel um 5,3 mm (39 % der Ausgangslänge), die Bayluscid-Tiere um 8,4 mm (61 %) und die Kontrollen um 9,3 mm (70 %) gewachsen (Abb. 10).

Mittel	n	$\bar{x}$	Min. - Max.	s	$s_{\bar{x}}$	95% c.l.	P
Lebaycid							
1. 3.	35	13,6	11,5 - 15,0	0,18	0,03	0,06	0,06
11. 3.	25	15,1	14,0 - 16,4	0,75	0,15	0,31	<0,001
22. 3.	25	17,0	14,0 - 18,5	1,22	0,24	0,49	<0,001
5. 4.	25	17,4	14,6 - 19,2	1,25	0,25	0,51	<0,001
19. 4.	25	17,8	15,6 - 21,0	1,61	0,32	0,66	<0,001
3. 5.	25	18,9	16,0 - 22,0	1,55	0,31	0,64	<0,001
Bayluscid							
1. 3.	30	13,8	12,0 - 15,0	0,13	0,02	0,04	0,001
11. 3.	25	15,9	14,4 - 17,8	0,97	0,19	0,39	0,66
22. 3.	25	19,0	16,0 - 21,0	1,32	0,26	0,54	0,01
5. 4.	25	20,1	17,0 - 23,0	1,51	0,30	0,62	0,17
19. 4.	25	21,3	18,0 - 25,0	1,83	0,36	0,74	0,54
3. 5.	25	22,2	18,8 - 26,2	2,31	0,46	0,95	0,63
Kontrolle							
1. 3.	31	13,3	11,5 - 14,5	0,77	0,13	0,26	
11. 3.	25	16,0	14,0 - 17,6	0,93	0,18	0,37	
22. 3.	25	20,0	15,0 - 21,0	1,41	0,28	0,58	
5. 4.	25	20,6	16,0 - 22,4	1,33	0,26	0,54	
19. 4.	25	21,5	18,0 - 24,0	1,80	0,36	0,74	
3. 5.	25	22,6	19,0 - 24,6	1,51	0,30	0,62	

Tab. 3: Längenwachstum (in mm) von Tilapia leucosticta in den Langzeitversuchen (63 Tage) mit Lebaycid und Bayluscid (WP). Linke Spalte = Datum der Meßtage, n = Anzahl der gemessenen Tiere, $\bar{x}$ = Mittelwerte, Min. - Max. = Extremwerte, s = Standardabweichung (S.D.), $s_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes (S.E.), 95 %-c.l. = 95 %-confidence limit (Vertrauensbereich), p = Fehlerwahrscheinlichkeit.

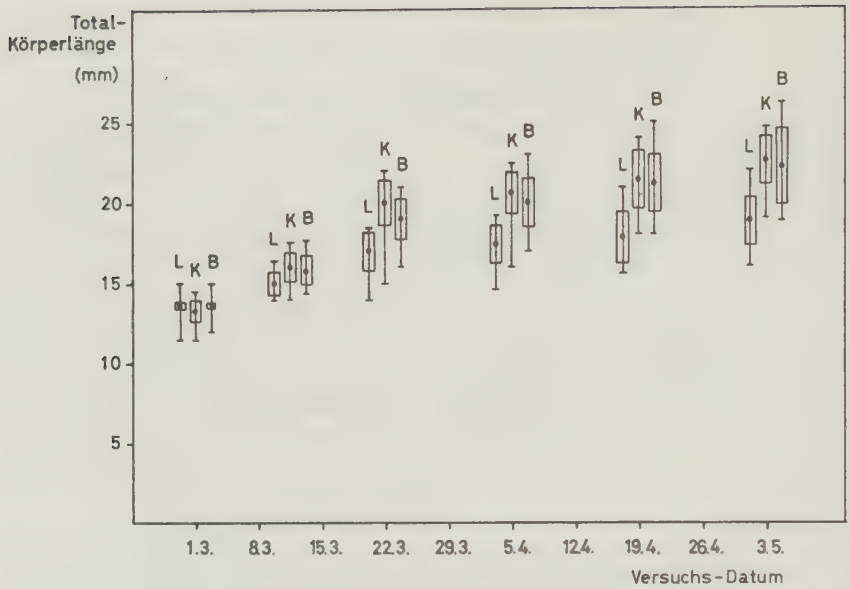


Abb. 8: Gesamtlängen von Tilapia leucosticta während der Langzeitversuche (Behandlung mit subletalen Dosen: 0,15 ppm Bayluscid (WP), 1 ppm Lebaycid). Die Punkte stellen die Mittelwerte, die Querbalken die Extremwerte, die Kästchen die Standardabweichung dar. K = Kontrolle, L = Lebaycid-, B = Bayluscid-Fische.

3. Gewichtszunahme

Da das Längenwachstum auch mit einer Gewichtszunahme korreliert ist, ergeben die Gewichtsbestimmungen ein ähnliches Bild. Alle Ergebnisse sind in Tab. 4 und Abb. 9 zusammengefaßt. Die Ausgangsgewichte der Fische sind nahezu gleich: 38 mg bei der Lebaycid-Gruppe, 40 mg bei der Bayluscid- Gruppe und 36 mg bei den Kontrollen. Nach der 2. Messung (10. Tag) ergibt sich bereits ein signifikanter Unterschied zwischen den Lebaycid-Fischen und den Kontrollen ($t_{20} = 4,67$; $p < 0,001$). Die schon nach einer Woche auftretenden Unterschiede werden bis Versuchsende noch größer. Erwartungsgemäß sind die Differ-

enzen hier noch gravierender als beim Längenwachstum. Die Lebaycid-Fische liegen in ihrem Gewicht durchschnittlich um 67 mg, die Bayluscid-Fische nur um 2 mg niedriger als die Kontrollen. Bei den Lebaycid-Tieren beträgt die gesamte Gewichtszunahme 28 mg (74,4 % vom Ausgangsgewicht), bei den Bayluscid-Tieren 91 mg (228,5 %) und bei den Kontroll-Fischen 97 mg (273,6 %) (Abb. 10).

Mittel	n	$\bar{x}$	Min. - Max.	s	$s_{\bar{x}}$	95% c.l.	P
Lebaycid							
1. 3.	20	38	24 - 44	5,9	1,3	2,7	0,24
11. 3.	20	44	28 - 56	5,8	1,3	2,7	<0,001
22. 3.	16	52	33 - 60	8,0	2,0	4,6	<0,001
5. 4.	18	55	40 - 76	10,3	2,4	5,1	<0,001
19. 4.	17	59	48 - 86	12,4	3,0	6,4	<0,001
3. 5.	18	66	56 - 100	9,4	2,2	4,6	<0,001
Bayluscid							
1. 3.	20	40	32 - 44	3,3	0,7	1,5	0,005
11. 3.	18	54	34 - 74	11,1	2,6	5,5	0,12
22. 3.	18	80	40 - 87	11,1	2,6	5,5	0,82
5. 4.	18	87	46 - 150	28,3	6,6	14,1	0,78
19. 4.	19	105	58 - 214	35,4	8,1	17,0	0,68
3. 5.	20	131	74 - 240	32,5	7,2	15,2	0,85
Kontrolle							
1. 3.	18	36	30 - 46	5,1	1,2	2,5	
11. 3.	18	61	32 - 90	14,2	3,3	7,0	
22. 3.	13	81	36 - 117	19,2	5,3	11,6	
5. 4.	18	90	46 - 140	25,6	6,0	12,7	
19. 4.	18	110	55 - 180	28,2	6,6	14,0	
3. 5.	19	133	72 - 204	29,2	6,7	14,1	

Tab. 4: Zunahme des Gewichts (in mg) bei Tilapia leucosticta während der Langzeitversuche. Bezeichnungen wie in Tab. 3.

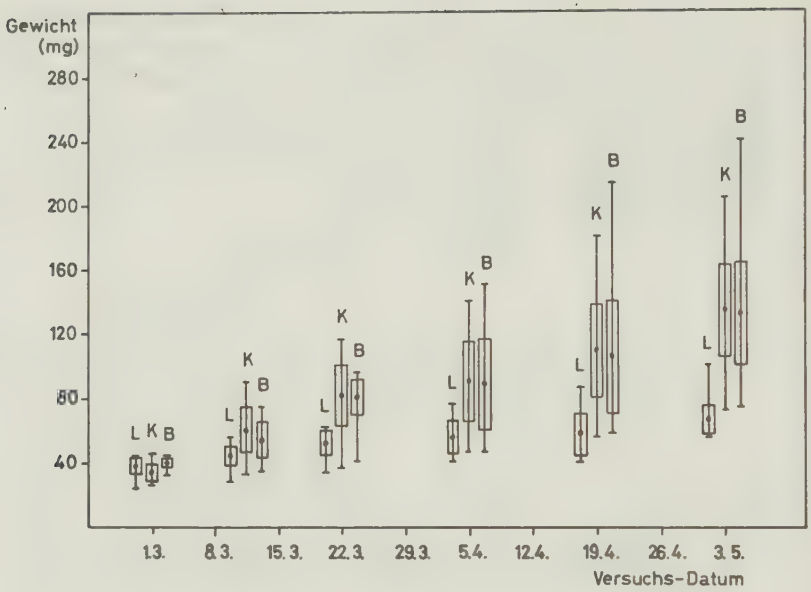


Abb. 9: Körpergewichte von Tilapia leucosticta während der Langzeitversuche. Bezeichnungen s. Abb. 8.

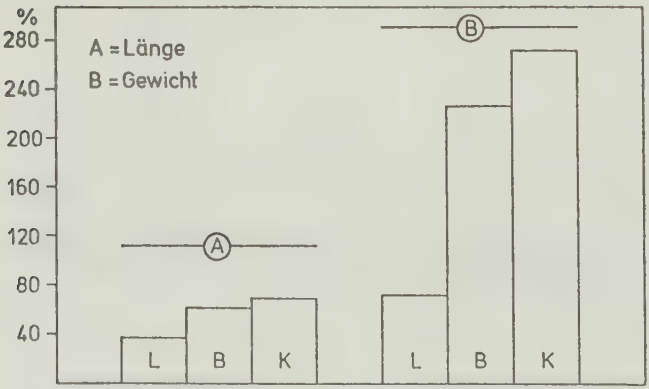


Abb. 10: Gesamte Längen- und Gewichtszunahme während der Langzeitversuche (in % der Ausgangswerte). K = Kontrolle, L = Lebaycid-, B = Bayluscid-Tiere.

Die Versuche zeigen, daß eine langfristige Einwirkung von Lebaycid (in subletaler Dosis) das Längenwachstum und die Gewichtszunahme von Jungfischen der Art Tilapia leucosticta hemmt. Dagegen konnten bei Bayluscid (WP) keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

4. Mortalität

Abb. 11 stellt die Mortalitätsrate bei den drei Langzeitversuchen über die gesamte Versuchsdauer hinweg dar. Todesfälle traten überwiegend nach dem Erneuern der Testflüssigkeiten auf. Bis zum Versuchsende fielen im Lebaycid-Ansatz 19, bei Bayluscid (WP) 9 und bei den Kontrollen 8 Fische aus. Weitere Daten sind in Tab. 5 aufgeführt.

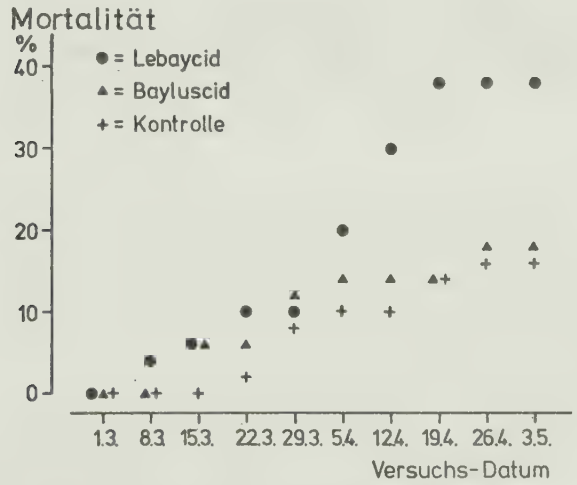


Abb. 11: Mortalitätsrate (Ausfälle in Prozent) bei Tilapia leucosticta in den Langzeitversuchen.

Datum	Lebaycid	Bayluscid	Kontrolle
1.3.	0 (0)	0 (0)	0 (0)
8.3.	4 (2)	0 (0)	0 (0)
15.3.	6 (3)	6 (3)	0 (0)
22.3.	10 (5)	6 (3)	2 (1)
29.3.	10 (5)	12 (6)	8 (4)
5.4.	20 (10)	14 (7)	10 (5)
12.4.	30 (15)	14 (7)	10 (5)
19.4.	38 (19)	14 (7)	14 (7)
26.4.	38 (19)	18 (9)	16 (8)
3.5.	38 (19)	18 (9)	16 (8)

Tab. 5: Mortalitätsrate von Tilapia leucosticta in den Langzeitversuchen (in Prozent der Versuchsansätze mit je 50 Tieren). Linke Spalte = Datum der Zähltage; die Werte in Klammern sind Absolutzahlen.

V. Periodische Einwirkung subletaler Dosen auf adulte Fische

Um eine anhaltende Wirkung in der Parasitenbekämpfung zu erzielen, müssen Lebaycid und Bayluscid in bestimmten Zeitabständen immer wieder in die Gewässer ausgebracht werden. Dabei kommen auch die adulten Fische periodisch mit den Giften, in der Regel mit subletalen Dosen, in Kontakt. Diese Situation habe ich in den folgenden Versuchen simuliert.

Zunächst wurden 13 adulte Tilapia leucosticta (9 ♀♀, 4 ♂♂) in einem Zeitraum von 141 Tagen einmal pro Woche 24 Stunden lang einer subletalen Dosis (0,3 ppm) Bayluscid (WP) ausgesetzt. Zur Kontrolle dienten 16 Tiere (12 ♀♀, 4 ♂♂). Die Einwirkung der Pestizide erfolgte wieder in abgedeckten 10 l - Vollglasbecken, wobei ein Becken nicht mehr als 3 Fische enthielt. Nach einer Eingewöhnungszeit von 6 Stunden pipettierte ich die Substanz aus einer vorher angesetzten Stammlösung ein. Körperlänge (von der Schnauzenspitze bis zur Ansatzstelle der Schwanzflosse), Gesamtlänge und Gewicht ermittelte ich bei Versuchsbeginn, nach 114 Tagen und bei Versuchsende (141. Tag). Um die Fische individuell unterscheiden zu können, markierte ich sie mit kleinen farbigen Glasperlen, die mit einem dünnen Perlonfaden im Rückenmuskel, unmittelbar vor der Rückenflosse, befestigt wurden. Die Fische ertrugen diese Art der Markierung jahrelang ohne Schaden.

Nach dem 24 stündigen "Pestizidstoß" wurden die Fische wieder in die großen Hälterungsbecken (50 x 35 x 44 cm) zurückgebracht, wobei in den einzelnen Becken nicht mehr als 4 Tiere waren (pro Becken immer nur ein Männchen). Da ablaichende Weibchen in der Erbrütungszeit (ca. 14 Tage) keine Nahrung zu sich nehmen (Störung der Meßergebnisse), entfernte ich bei ihnen die Eier aus dem Maul. Die Tiere bekamen täglich die gleiche Menge Tetramin; Jeweils 48 Stunden vor dem "Pestizidstoß" erfolgte keine Fütterung mehr. In einem weiteren Versuch prüfte ich die Auswirkungen einer subletalen Konzentration von Lebaycid (7 ppm) mit 16 Fischen (4 ♂♂, 12 ♀♀). Parallel dazu erfogte ein Kontrollversuch mit 13 Tieren (4 ♂♂, 9 ♀♀). Der gesamte Versuchszeitraum erstreckte sich hier über 143 Tage; die Messungen erfolgten bei Versuchsbeginn, nach 109 Tagen und bei Versuchsende am 143. Tag.

Ergebnisse

1. Bayluscid (WP)

Alle Einzeldaten sind in Tab. 6 zusammengefaßt und in Abb. 12 anschaulich dargestellt. Die Meßwerte habe ich für Männchen und Weibchen getrennt und dann zusammen dargestellt. Gemessen wurden die Körperlänge, Gesamtlänge und Gewicht.

Versuchs-fische:	Körperlänge (cm)			Gesamtlänge (cm)			Gewicht (g)		
	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂
1. Tag	9,1 ±1,5	8,5 ±0,4	10,5 ±2,2	11,8 ±1,9	11,0 ±0,5	13,8 ±2,7	26,2 ±14,4	20,4 ±3,8	39,1 ±21,7
114. Tag	10,3 ±1,4	9,6 ±0,4	12,0 ±1,5	13,3 ±1,8	12,4 ±0,5	15,5 ±1,6	33,1 ±15,5	25,6 ±3,1	50,0 ±19,7
	13,2 %	13,0 %	14,3 %	12,7 %	12,7 %	12,3 %	26,3 %	25,5 %	27,8 %
141. Tag	10,5 ±1,4	9,8 ±0,5	12,2 ±1,4	13,6 ±1,8	12,6 ±0,6	15,8 ±1,7	34,5 ±15,5	27,1 ±4,2	51,3 ±19,2
	15,4 %	15,3 %	16,2 %	15,3 %	14,5 %	14,5 %	31,7 %	32,8 %	31,2 %
Kontroll-fische:									
1. Tag	9,5 ±0,8	9,1 ±0,5	10,5 ±0,8	12,3 ±1,1	11,8 ±0,6	13,9 ±1,0	27,1 ± 6,8	24,0 ±3,2	36,1 ± 7,0
114. Tag	10,6 ±1,1	10,1 ±0,5	12,1 ±1,0	13,8 ±1,5	13,2 ±0,7	15,9 ±1,2	36,3 ±11,4	31,3 ±5,0	51,4 ±12.4
	12,0 %	10,7 %	15,2 %	12,2 %	11,2 %	14,4 %	34,2 %	29,9 %	42,6 %
141. Tag	10,8± 1,1	10,3 ±0,5	12,4 ±1,0	14,1 ±1,5	13,4 ±0,7	16,1 ±1,2	38,3 ±12,0	32,8 ±5,7	54,8 ±10,9
	14,3 %	13,0 %	17,8 %	14,0 %	13,3 %	16,2 %	41,5 %	36,4 %	51,8 %

Tab. 6: Körperlänge, Gesamtlänge und Gewicht nach periodischer Einwirkung von 0,3 ppm Bayluscid (WP) auf Tilapia leucosticta. Die Prozentzahlen geben die relativen Zunahmen, bezogen auf die Ausgangswerte, an. (♂♂ + ♀♀) = Zusammenfassung aller Einzelwerte, (♂♂) nur die männlichen Daten, (♀♀) nur die weiblichen Daten wurden berücksichtigt.

Körperlänge: Die 2. Messung (114. Tag) ergab bei den mit Bayluscid (WP) behandelten männlichen Fischen einen prozentualen Zuwachs (bezogen auf das Anfangsmaß) von 14,3 %, bei den männlichen Kontrollen dagegen 15,2 %. Die mit Bayluscid (WP) behandelten Weibchen zeigten einen Zuwachs von 13,0 %, die Kontroll-Tiere jedoch nur 10,7 %. Faßt man Männchen und Weibchen zusammen, so ist der Zuwachs bei den Versuchs-Fischen um 1,2 % größer. Am Ende des Versuchs (141. Tag) war die relative Zunahme der Körperlänge bei den Kontroll-Tieren (♂♂ + ♀♀) um 1,1 % geringer als bei den mit Bayluscid (WP) behandelten Fischen.

Gesamtlänge: Bei den Kontroll-Tieren erreichten nach der 2. Messung (114. Tag) nur die männlichen Tiere einen Zuwachs von 2,1 %. Die mit Bayluscid (WP) behandelten weiblichen Fische erlangten gegenüber den Kontroll-Weibchen nach der 2. Messung einen Zuwachs von 1,5 %, die Männchen und Weibchen zusammen von nur 0,5 %. Auch nach der 3. Messung (141. Tag) blieb dies unverändert. Danach sind die mit Bayluscid (WP) behandelten Fische (♂♂ + ♀♀) in ihrer Gesamtlänge um 1,3 %, die Weibchen um 1,2 % stärker gewachsen als die Kontrollen. Die männlichen Versuchs-Fische blieben dagegen um 1,7 % hinter den Kontrollen zurück.

Körpergewicht: Ein wesentlicher Zuwachs an Körperlänge war bei den bereits adulten Versuchs-Tieren nicht mehr zu erwarten, wohl aber eine erhebliche Zunahme der Korpulenz. Dies zeigte sich vor allem bei den Gewichtbestimmungen. Die männlichen Kontrollen waren nach der 2. Messung um 14,8% schwerer als die mit Bayluscid (WP) behandelten Fische, die Weibchen um 4,4 %, die Männchen und Weibchen zusammen um 7,9 %. Bis zur 3. Messung nahm die Differenz zwischen den männlichen Test- und Kontroll-Tieren sprunghaft zu; die unbehandelten Männchen waren um 20,6 %, die Weibchen 3,6 %, die Männchen und Weibchen zusammen 9,8 % schwerer als die Test-Fische.

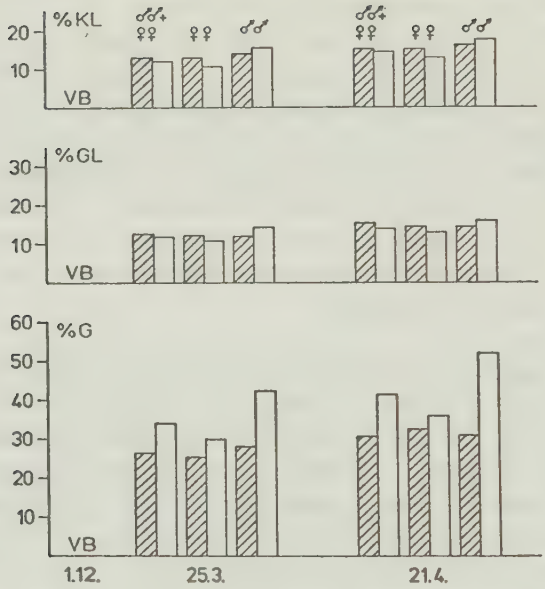


Abb. 12: Körperlängen- und Gesamtlängenzunahme und Gewichtswachstum (in % der Ausgangswerte) nach periodischer Einwirkung subletaler Dosen von Bayluscid (WP) (0,3 ppm) auf Tilapia leucosticta. Die schraffierten Balken geben die Ergebnisse der Test-Tiere, die weißen die der Kontrollen wieder. KL = Körperlänge, GL = Gesamtlänge, G = Gewicht. VB = Versuchsbeginn. Versuchsdauer = 114 Tage.

2. Lebaycid

Die Auswirkungen auf periodisch mit subletalen Dosen behandelte Tilapia leucosticta sind in Tab. 7 und Abb. 13 aufgeführt.

Versuchs-fische:	Körperlänge (cm)			Gesamtlänge (cm)			Gewicht (g)		
	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂	♂♂+♀♀	♀♀	♂♂
1. Tag	10,7 ± 1,2	10,2 ± 0,7	12,4 ± 1,0	14,0 ± 1,6	13,2 ± 1,0	16,1 ± 1,2	37,5 ± 12,8	31,8 ± 7,0	54,8 ± 10,9
109. Tag	11,2 ± 1,2	10,8 ± 0,8	12,6 ± 1,1	14,6 ± 1,5	14,0 ± 1,0	16,4 ± 1,5	39,5 ± 12,4	34,0 ± 7,2	55,9 ± 10,2
	4,5 %	5,5 %	1,6 %	4,7 %	5,7 %	1,7 %	5,2 %	7,0 %	2,0 %
143. Tag	11,6 ± 1,2	11,2 ± 0,9	12,9 ± 1,2	15,1 ± 1,5	14,6 ± 1,1	16,7 ± 1,4	43,5 ± 12,3	38,8 ± 9,1	57,3 ± 10,4
	8,2 %	9,9 %	3,9 %	8,2 %	10,0 %	3,4 %	15,8 %	22,2 %	4,7 %
Kontroll-fische:									
1. Tag	10,5 ± 1,4	9,8 ± 0,5	12,2 ± 1,4	13,6 ± 1,8	12,6 ± 0,6	15,8 ± 1,7	34,2 ± 15,6	26,7 ± 4,0	51,3 ± 19,2
109. Tag	11,0 ± 1,5	10,2 ± 0,7	12,9 ± 0,9	14,5 ± 2,0	13,4 ± 0,9	17,0 ± 1,0	40,3 ± 18,0	30,6 ± 6,6	61,1 ± 16,1
	4,6 %	3,9 %	5,9 %	6,3 %	5,6 %	7,6 %	17,8 %	14,9 %	19,2 %
143. Tag	11,7 ± 1,4	10,8 ± 0,6	13,5 ± 0,8	15,1 ± 1,9	13,9 ± 0,7	17,7 ± 0,8	47,2 ± 20,0	35,8 ± 5,6	72,9 ± 15,5
	10,7 %	10,8 %	10,7 %	10,6 %	10,1 %	11,6 %	38,0 %	34,2 %	42,1 %

Tab. 7: Körperlänge, Gesamtlänge und Gewicht nach periodischer Einwirkung einer subletalen Dosis von 7 ppm Lebaycid auf Tilapia leucosticta. Bezeichnungen wie in Tab. 6.

Körperlänge: Die Kontrollen waren nach der 2. Messung (109. Tag) um 0,1 %, nach der 3. Messung (143. Tag) um 2,5 % grösser als die mit Lebaycid behandelten Fische.

Gesamtlänge: Hier übertrafen die Kontrollen die Test-Fische nach der 2. Messung um 1,6 %, nach der 3. Messung um 2,4 %. Ebenso wie bei der Körperlänge traten auch hier die größten Unterschiede zwischen den männlichen Test- und Kontroll-Fischen auf.

Körpergewicht: Erhebliche Unterschiede stellten sich in der Gewichtszunahme ein. So lag der prozentuale Zuwachs an Körpergewicht bei den Kontrollen nach der 2. Messung um 12,6 % höher als bei den mit Lebaycid behandelten Fischen, nach der

3. Messung sogar um 22,2 %. Die größten Differenzen zeigten sich wieder zwischen den männlichen Test- und Kontroll-Tieren (37,4 %).

Die Versuche zeigen, daß durch periodische Einwirkung von subletalen Dosen der beiden Pestizide, die Körpermasse der Versuchs-Fische die Vergleichswerte der Kontrollen nicht mehr erreicht.

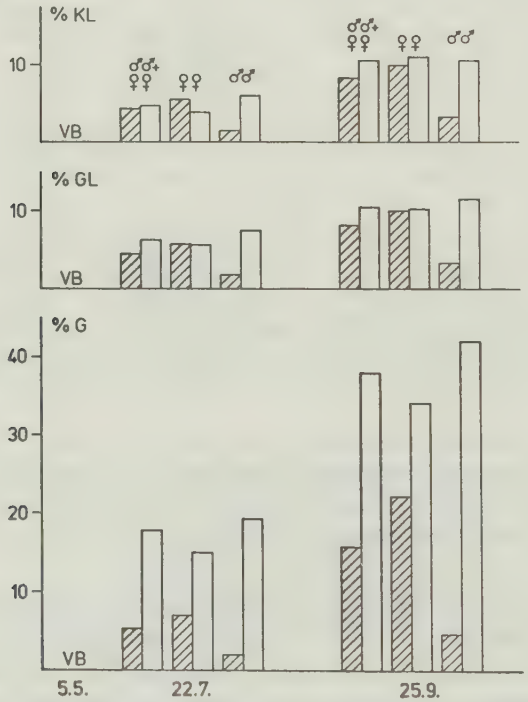


Abb. 13: Körperlängen- und Gesamtlängenzunahme und Gewichtswachstum (in Prozent der Ausgangswerte) nach periodischer Einwirkung subletaler Dosen von Lebaycid (7 ppm) auf Tilapia leucosticta. Versuchsdauer = 143 Tage. Bezeichnungen wie in Abb. 12.

VI. Tauchversuche mit Eiern und Jugendstadien von Tilapia leucosticta

Die Ausbringung der beiden Pestizide in die Gewässer durch Dispenser und Sprühgeräte, in Form von Granulaten oder mit Hilfe von Maiskolben-Schwimmkörpern (Bayluscid), die zuvor in die wässrige Suspension getaucht wurden, verursacht zumindest örtlich gefährlich hohe Konzentrationen. Fischeier und Fischlarven geraten aber dabei in Gefahr. Ich habe auch diese Situation im Laborversuch simuliert und Eier und Jungtiere jeweils kurzfristig hohen Konzentrationen der beiden Substanzen ausgesetzt und anschließend in einer Brutapparatur aufgezogen.

Da Tilapia leucosticta zu den "maulbrütenden" Cichliden gehört, mußten die befruchteten Eier einen Tag nach dem Ablaichen aus dem Maul der Weibchen entnommen werden. Ihre weitere Aufzucht erfolgte in Brutanlagen (Abb. 14). Hierbei handelte es sich um Rahmenaquarien (40 x 30 x 21,5 cm), in die der Länge nach Halterungen (Vinidur-Leisten, 38 x 10 x 0,5 cm) mit je 4 ausgebohrten Löchern (Ø = 6,5 cm) eingespannt waren; diese dienten als Auflage für Plastik-Teesiebe. Der Wasserspiegel im Aquarium reichte bis zur oberen Kante der Leiste. Eine Belüftung über Pasteur-Pipetten durchwirbelte die Eier in jedem Sieb. Ohne diese dauernde Bewegung verpilzten sie sofort. Die Brutanlagen waren mit Glasscheiben abgedeckt.

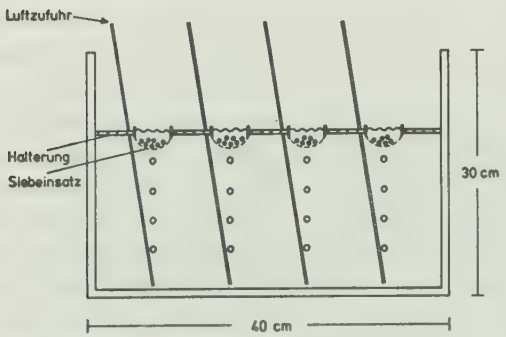


Abb. 14: Aufzuchtsanlage (schematisch) für Eier und Larven von Tilapia leucosticta.

Die Größe der Eier betrug 2,2-3,3 x 2,0-2,5 mm. Am ersten und zweiten Tag nach dem Ablaichen fielen die unbefruchteten Eier aus. Bei den drei Tage alten Eiern waren die Augen und das schlagende Herz klar zu erkennen, so daß man voraussagen konnte, welche Eier sich normal weiterentwickeln würden. Aus diesem Grunde habe ich die Versuche erst mit drei Tage alten Eiern begonnen. Am Ende des vierten Tages platzten die ersten Eihüllen und am fünften Tag waren 100 % der Brut geschlüpft. 14 Tage nach dem Ablaichen, nach der vollständigen Resorption des Dottersackes, erreichten die Larven das Juvenilstadium (Aufzuchttemperatur 25°C).

Tauchversuche: 20 - 40 Eier oder Jungtiere verschiedenen Alters wurden in belüfteten Glasgefäßen (50 ml) 60 Minuten lang in verschiedene Konzentrationen von Bayluscid (WP) oder Lebaycid getaucht, anschließend mit Aqua dest. abgespült und in die Brutanlage zurückgebracht, um die weitere Entwicklung zu beobachten. Die Eier bzw. Jungtiere stammten in jedem Versuch jeweils nur von einem Elterntier. Zu jedem Versuch erfolgten parallel Kontrollversuche. In dieser Weise untersuchte ich die Jungtiere bis zum Alter von 50 Tagen. Da die Fische von diesem Zeitpunkt an in ihrer Größe variieren, verwendete ich von nun an für die Tauchversuche nur noch gleichgroße und gleichaltrige Tiere und ermittelte die LC_{50}- und LC_{100}-Werte. Die Berechnung erfolgte nach den Ausfällen in der an den Test anschließenden Beobachtungszeit von 15 Tagen (s. Abschnitt III). Auf diese Weise konnten die Auswirkungen von Bayluscid (WP) und Lebaycid auf über 3500 Eier und 5000 Dottersack- bzw. Juveniltiere überprüft werden.

Ergebnisse

1. Bayluscid (WP): Die Auswirkungen der Substanz auf Eier, Dottersack- und Jungtiere sind in Tab. 8 und Abb. 15 dargestellt. Daraus geht hervor, daß die befruchteten Eier (solange die Eihülle noch intakt ist) gegenüber dem Pestizid nur wenig empfindlich sind. Die LC_{50}-Werte von 3 Tage alten Eiern liegen zwischen 8,4 und 11,3 ppm, die LC_{100}-Werte zwischen 12,0 und 15,3 ppm. Mit fortschreitender Entwicklung aber steigt ihre Empfindlichkeit. Dies zeigt sich bereits am 4. Tag (LC_{50} = 7,3 - 11,4 ppm, LC_{100} = 10,1 - 14,5 ppm). Am 5. Tag nimmt die Wirkung sprunghaft zu (Schlüpftag). Um 50 % der Fischlarven innerhalb von 15 Tagen zu töten, genügen hier

bereits Konzentrationen zwischen 3,3 und 3,9 ppm (LC_{100} = 4,8 - 6,0 ppm). Bis zum 14. Tag nach dem Ablaichen (Ende des Dottersackstadiums) nimmt die Empfindlichkeit noch weiter zu und nähert sich dann in den folgenden Wochen einem LC_{50}-"Grenzwert" von 1 ppm. Am 47. Tag, wenn die jungen Fische eine Länge von 24 mm erreichen, beträgt der LC_{50}-Wert 0,8, der LC_{100}-Wert 1,03 ppm. Auch bei den größeren Tieren verändern sich LC_{50}- und LC_{100}-Werte kaum noch.

Tag	LC_{50}/LC_{100}	Tag	LC_{50}/LC_{100}	Tag	LC_{50}/LC_{100}
3	10,60/12,0	9	2,7 /4,0	25	1,7 /2,0
	10,5 /13,0				
	10,2 /14,4	10	2,95/3,5	27	0,86/1,2
	9,7 /13,0				
	11,3 /15,3	11	1,3 /2,7	29	1,18/1,5
	9,9 /12,0				
	10,0 /13,5	12	1,5 /2,0	31	1,0 /1,2
	8,43/13,0				
	9,4 /13,5	13	1,0 /2,4	33	1,1 /1,21
4	7,3 /10,1	14	1,5 /2,0	34	0,86/1,1
	9,7 /13,0				
	11,4 /14,5	17	1,5 /2,0	37	1,29/1,5
	9,3 /12,5		1,9 /2,2		
				40	1,2 /1,4
5	3,9 /6,0	19	1,3 /1,75		
	3,3 /4,8		1,7 /2,0	42	0,9 /1,15
6	3,8 /6,5	20	1,39/1,53	45	0,7 /0,9
	3,1 /4,0				
		23	1,8 /2,2	47	0,8 /1,03
7	2,8 /6,0				
		24	1,52/1,70	30-35 mm	1,0 /1,2
8	3,15/4,0		1,6 /2,05	53-58 mm	0,88/1,18

Tab. 8: LC_{50}- und LC_{100}-Werte für Bayluscid (WP) bei verschiedenen Entwicklungsstadien von Tilapia leucosticta (in ppm). Behandlungsdauer 1 Stunde. Tag = Alter in Tagen nach dem Ablaichen. Nach dem 50. Tag erfolgt nur noch die Angabe der Gesamtlänge (in mm).

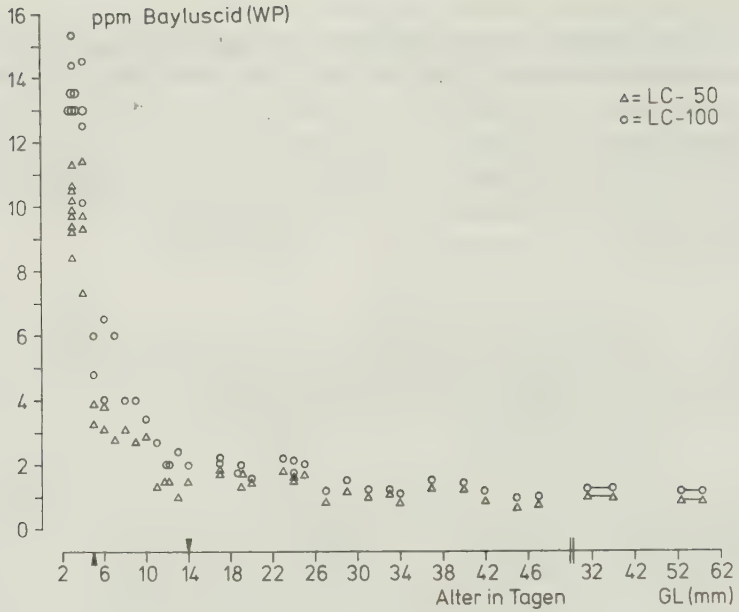


Abb. 15: LC_{50}- und LC_{100}-Werte für Bayluscid (WP) bei verschiedenen Entwicklungsstadien von Tilapia leucosticta. Nach dem 50. Tag erfolgt die Einteilung der Fische in mm Gesamtlänge (GL). Erster Pfeil = Schlüpftag (5. Tag), zweiter Pfeil = Ende des Dottersack-Stadiums (14. Tag). Vergl. Abb. 16.

2. Lebaycid: Alle Einzeldaten sind in Tabelle 9 zusammengefaßt und in Abb. 16 graphisch dargestellt. Die Versuche zeigen, daß die toxische Wirkung von Lebaycid für die Eier und Jugendstadien geringer ist, als die von Bayluscid. Die LC_{50}-Werte liegen am 3. Tag zwischen 2300 und 3100 ppm (LC_{100} = 3500 - 4600 ppm). Bis zum 4. Tag nimmt die Empfindlichkeit gering zu (LC_{50} = 1600 - 2900 ppm, LC_{100} = 3100 - 4000 ppm).

Ein großer Sprung tritt am Schlüpftag ein: bereits 130 - 140 ppm töten hier 50 % der Tiere (LC_{100} = 300 ppm). Die Empfindlichkeit der Dottersack-Stadien steigt bis zum 13. Tag nach dem Ablaichen leicht an; es folgt dann bis zum 16. Tag noch einmal ein großer Sprung (LC_{50} = 16,1 ppm, LC_{100} = 20 ppm). Zwischen dem 34. und dem 38. Tag (Länge der Fische 15 - 20 mm) erreicht die Kurve ihren Tiefpunkt. Die Empfindlichkeit der Versuchs-Tiere ist hier am größten. Danach steigen die Werte wieder leicht an. Die LC_{50}- bzw. LC_{100}-Werte betragen bei einer Größe von 54 - 60 mm 19 bzw. 22 ppm.

Tag	LC_{50} / LC_{100}	Tag	LC_{50} /LC_{100}	Tag	LC_{50} /LC_{100}
3	2300/3500	11	100 /150	33	10,7/13,6
	2600/4100				8,2/10,11
	2700/4500	12	115 /150		
	3100/4600			35	13,1/16,0
	2800/4500	13	90 /140		
	2550/3500			37	9,0/11,0
		14	31 /42		
4	2500/4000		46 /70	39	11,0/13,5
	2600/4000				
	2500/3500	16	16,1/20,0	41	12,0/14,0
	1600/3100				
	2900/4000	17	18,6/22,0	43	10,5/12,5
5	130/300	18	14,5/18,0	45	11,5/13,5
	140/300				
		19	18,0/24,0	47	12,0/15,5
6	95/165				
	136/187	20	17,6/20,0	49	13,0/16,0
	150/200				15,0/18,5
		22	13,6/20,0		
7	150/220			30-35 mm	16,0/20,0
	132/160	23	11,1/13,5	40-45 mm	15,0/18,0
				54-60 mm	19,0/22,0
8	161/190	24	12,0/16,9		
9	120/160	25	14,9/16,0		
10	130/170	29	16,5/21,0		
	110/150		11,6/12,9		
	64/100	31	18,0/22,8		

Tab. 9: LC_{50}- und LC_{100}-Werte für Lebaycid bei verschiedenen Entwicklungsstadien von Tilapia leucosticta (in ppm). Behandlungsdauer der Eier und Tiere 1 Stunde. Tag = Alter in Tagen nach dem Ablaichen. Nach dem 50. Tag erfolgt nur noch die Angabe der Gesamtlänge (in mm).

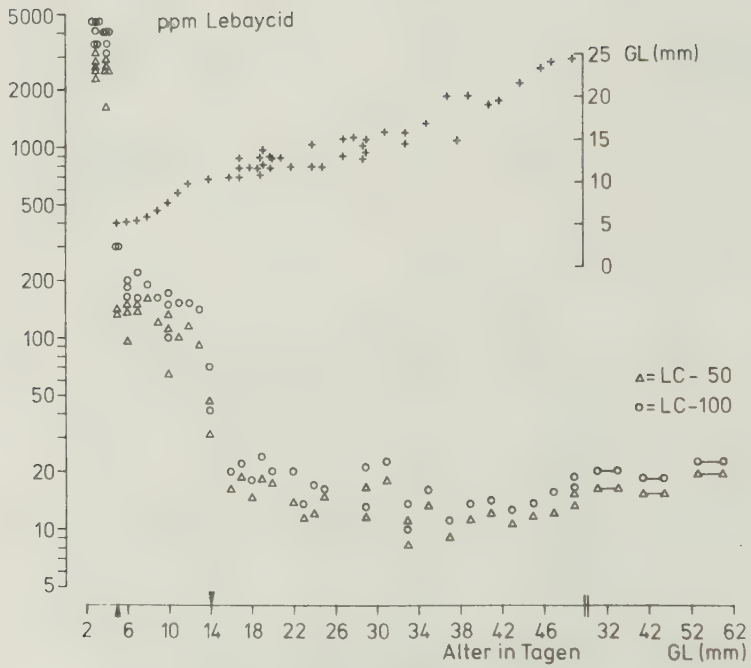


Abb. 16: LC_{50}- und LC_{100}-Werte für Lebaycid bei verschiedenen Entwicklungsstadien von Tilapia leucosticta. Nach dem 50. Tag erfolgt die Einteilung der Fische in mm Gesamtlänge (GL). Weitere Bezeichnungen wie in Abb. 15. Zusätzlich wurde das Wachstum (GL = Gesamtlänge) vom Schlüpfen bis zum 50. Tag eingetragen.

3. Krüppelformen: Bei den meisten Tauchversuchen traten entweder schon kurz nach dem Versuch oder nach wenigen Tagen Gewebeschädigungen und Mißbildungen auf. So zeigten z.B. Versuchs-Fische, die am 5. Entwicklungstag in 3 ppm Bayluscid (WP) bzw. 200 ppm Lebaycid getaucht wurden, Epithelablösungen und Nekrose in der Schwanzflossen- und Abdominalregion (Abb. 17 c, d, f). Auch unterschiedlich starke Verkrümmungen der Wirbelsäule stellten sich dabei ein (Abb. 17 b, e).

Abb. 17:

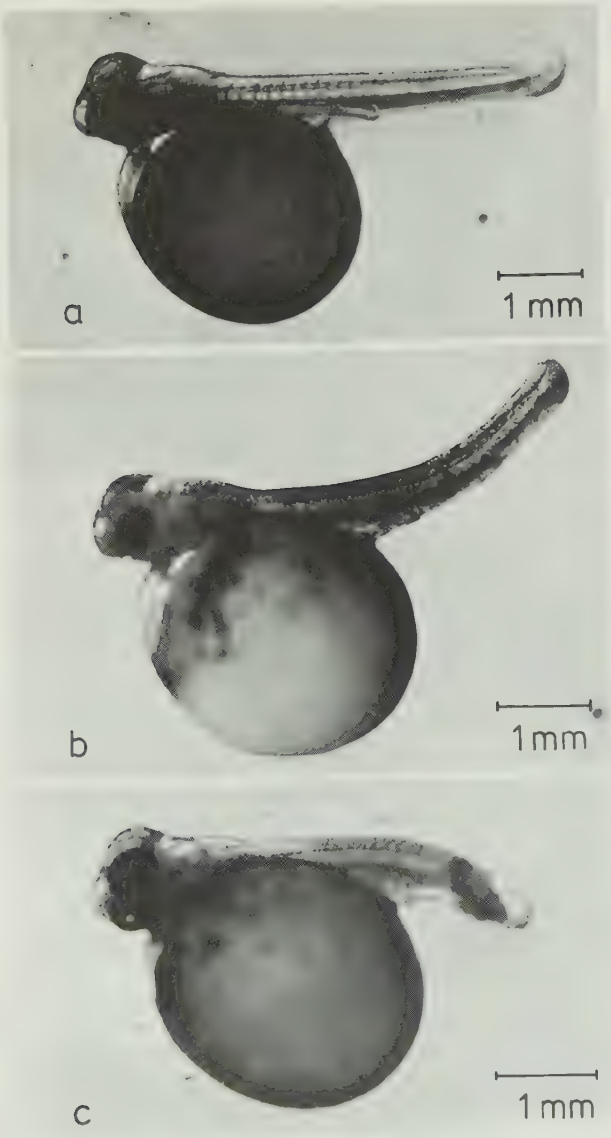


Abb.17:

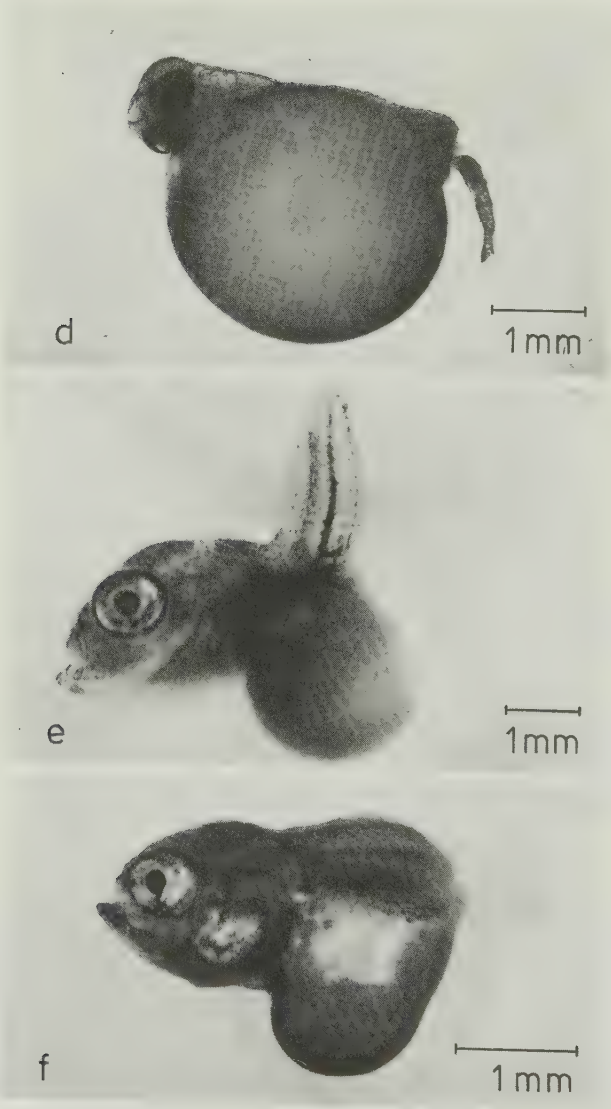


Abb. 17: Mißbildungen und Nekrosen nach 60 Minuten Behandlung 5 Tage alter Larven von Tilapia leucosticta mit 3 ppm Bayluscid (WP) bzw. 200 ppm Lebaycid. a = Kontroll-Tier, b-f = Krüppelformen. Alter der abgebildeten Tiere: a-d = 7 Tage, e = 9 Tage, f = 8 Tage.

Aus Eiern, die am 3. Lebenstag für 60 Minuten in 8 ppm Bayluscid (WP) bzw. 2000 ppm Lebaycid getaucht wurden, schlüpften am 5. Tag teilweise Larven mit Wirbelsäulen-Verkrümmungen und total nekrotisierter Abdominalregion. Das Gewebe war stark gerötet. Zu Ablösungen des Epithels kam es auch in der Mundregion (160 ppm Lebaycid, Tauchzeit 60 Minuten, Alter der Larven bei der Behandlung 6 Tage) (Abb. 18). Infolge der erschwerten Atmung und Ernährung starben diese Tiere bald nach Beendigung des Dottersackstadiums.

Abb. 18: Neben den Mißbildungen in der abdominalen Region treten Deformationen in der Mundregion durch Epithelablösung während des Tauchversuches auf. Alter bei der Behandlung 6 Tage, Konzentration 160 ppm Lebaycid, Tauchzeit 60 Minuten. Alter des abgebildeten Tieres 15 Tage.

Am 8. Lebenstag differenziert sich der Primordialsaum in Rücken-, Schwanz- und Afterflosse. Von diesem Zeitpunkt an lassen sich die mißgebildeten Tiere in 3 Kategorien einteilen:

Krüppelform I (KF-I):

a) Tiere mit Verkrümmung der Wirbelsäule (Skoliose) und anormal gedrungener Körperform (Abb. 19 b).

b) Schwanzflosse ist nicht vollständig ausgebildet (Abb. 19 c, d, e).

Krüppelform II (KF-II):

Schwanzflosse fehlt, alle anderen Flossen sind normal ausgebildet (Abb. 19 f, g).

Krüppelform III (KF-III):

Schwanz- und Afterflosse sind nicht mehr ausgebildet (Abb. 19 h).

In allen Fällen können zusätzlich zu den oben genannten pathologischen Veränderungen noch Verkrümmungen der Wirbelsäule auftreten (Abb. 20). Während die Aufzucht der Krüppelformen I und II keine Schwierigkeiten macht, lassen sich die Tiere mit den schwersten Mißbildungen (KF-III) nur in ganz wenigen Fällen am Leben erhalten. In der Regel überleben sie den 14. Tag (Ende des Dottersackstadiums) nicht.

Abb.19:

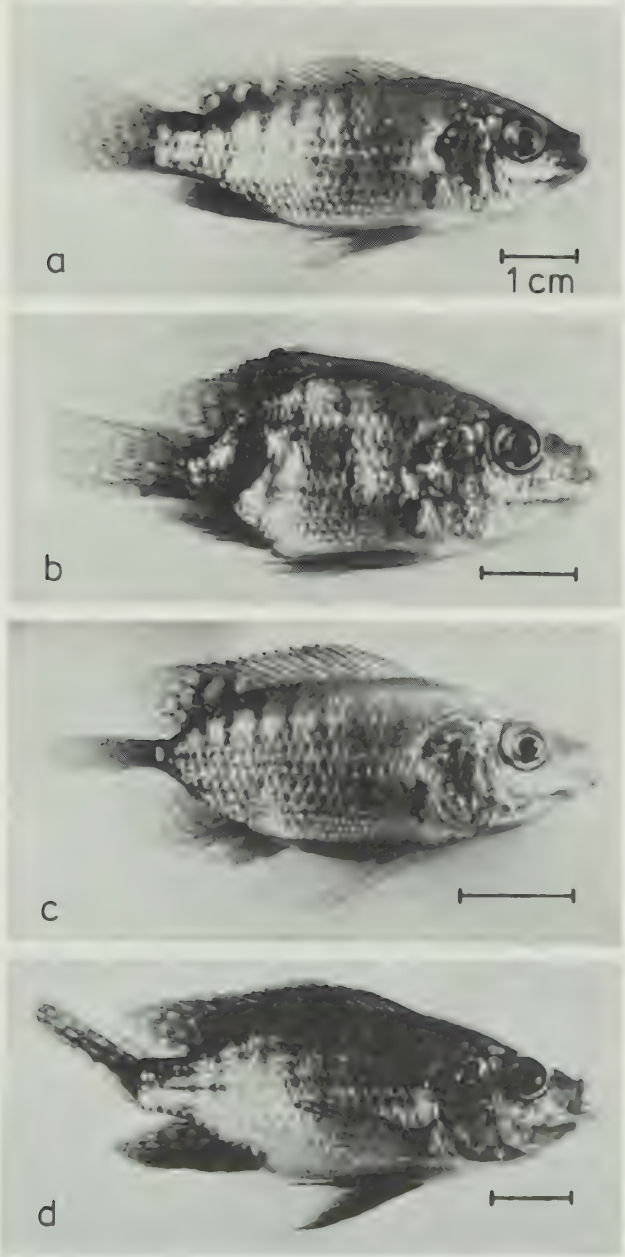


Abb.19:

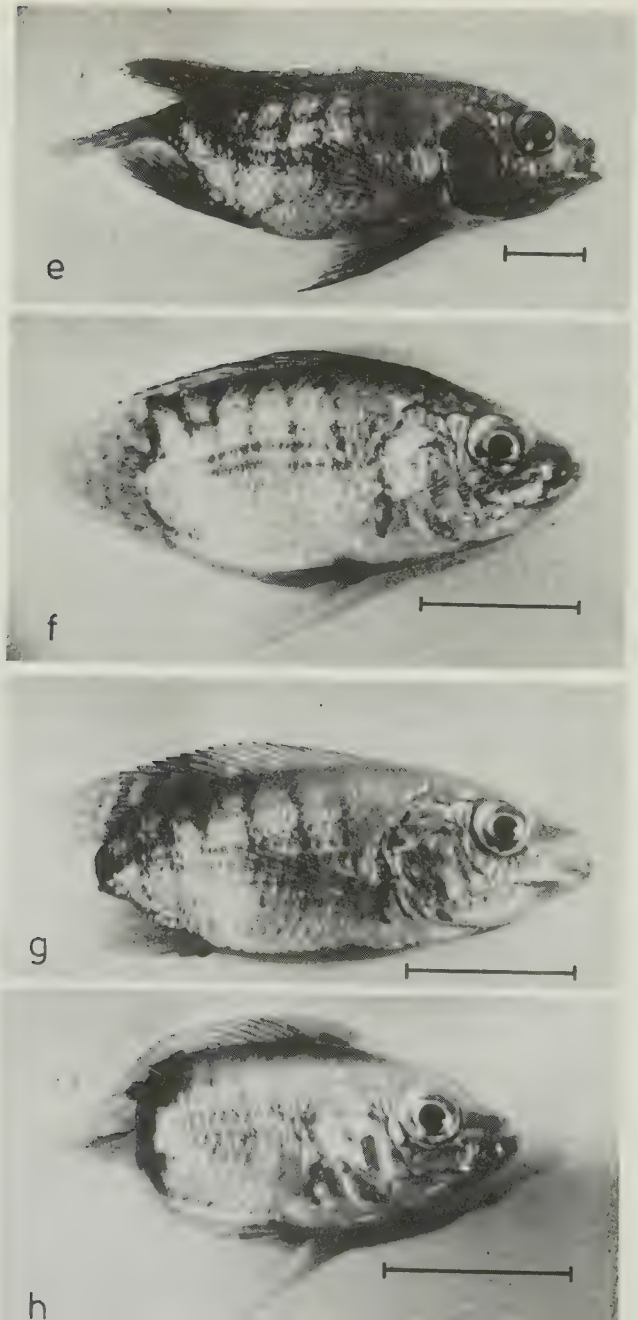
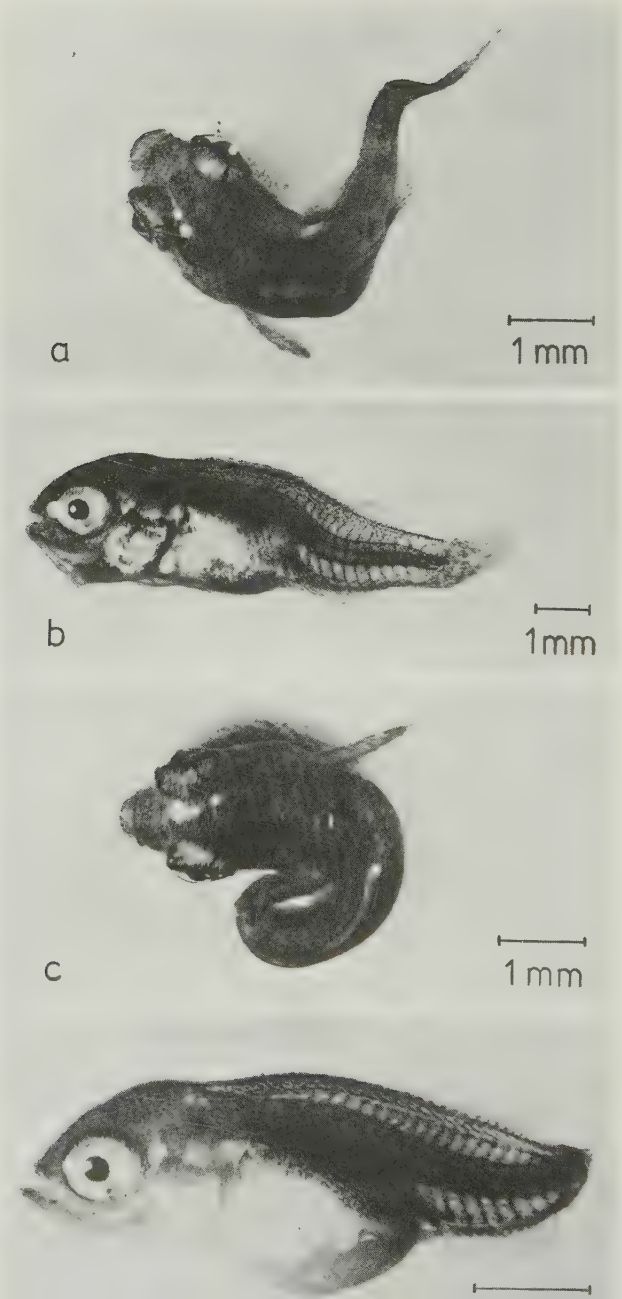


Abb. 19: Kontroll-Tier (a) und verschiedene Krüppelformen von Tilapia leucosticta (Alter 3 - 5 Monate).
b-e: Krüppelform I. Verkrümmung der Wirbelsäule und leichte Deformation der Schwanzflosse. Tauchzeit 60 Minuten, Konzentration 1000 ppm Lebaycid bzw. 8 ppm Bayluscid (WP), Alter beim Tauchen 3 Tage.
f-g: Krüppelform II. Verkrümmung der Wirbelsäule und fehlende Schwanzflosse. Tauchzeit 60 Minuten, Konzentration 2000 ppm Lebaycid bzw. 9,5 ppm Bayluscid (WP), Alter beim Tauchen 3 Tage.
h: Krüppelform III. Verkrümmung der Wirbelsäule, Schwanzflosse und Afterflosse sind nicht mehr ausgebildet, Rückenflosse ist im hinteren Teil eingefaltet. Tauchzeit 60 Minuten, Konzentration 2000 ppm Lebaycid, Alter beim Tauchen 3 Tage. Der eingezeichnete Maßstab entspricht jeweils 1 cm.

Abb. 20: Darstellung verschiedener Verkrümmungen der Wirbelsäule bei Tilapia leucosticta. Tauchzeit 60 Minuten, Konzentrationen 9 ppm Bayluscid (WP) bzw. 2000 ppm Lebaycid. Alter beim Tauchen 3 Tage, Alter der abgebildeten Tiere (a-c) 16 Tage, d) 13 Tage.

Abb. 20:



4. Röntgenuntersuchung der verkrüppelten Fische:

Mit Hilfe von Röntgenaufnahmen, durch Präparation und histologischer Aufarbeitung konnten die Wirbelsäulendefekte genauer untersucht werden (Abb. 21 a - g). Die leicht sigmoid geformte Wirbelsäule der gesunden Tiere setzt sich aus 27 Wirbeln und dem Urostyl zusammen (21 a). Bei den KF-I-Tieren ist das Urostyl noch vorhanden, nicht mehr dagegen bei den KF-II- und KF-III-Tieren. Abb. 21 b zeigt als Beispiel eine starke, fast rechtwinklige Abwärtskrümmung der Wirbelsäule bei einem KF-I-Tier. Bei dem folgenden Tier (21 c) fehlt zwar die Schwanzflosse, die Wirbelsäule ist im Schwanzabschnitt jedoch nur leicht gebogen. In Abb. 21 d ist sie bei je einem weiteren Versuchs-Fisch dorsalwärts, in e) ventralwärts und in f) nach dorsal und dann wieder ventrocaudad abgewinkelt. Die Form der einzelnen Wirbelkörper bleibt annähernd erhalten. Bei dem in Abb. 21 g dargestellten Fisch besteht der letzte Teil der Wirbelsäule nicht mehr aus einzelnen Wirbelkörpern; hier sind mehrere Wirbel miteinander zu einem großen, kugeligen und verknöcherten Gebilde verschmolzen. Mit Ausnahme der Krüppelformen I ist bei allen anderen die Wirbelsäule im hinteren Teil des Körpers durch den Ausfall von einzelnen Wirbeln verkürzt. Die Zahl der entfallenen Wirbel ist dem Grad der Mißbildung proportional. Dies geht aus zahlreichen histologischen Längsschnitten hervor.

Abb. 21: Krüppelformen (rechts) und die entsprechenden Röntgenbilder (links) von Tilapia leucosticta aus verschiedenen Tauchversuchen.
a) Normal-Tier (Abb. 1,2 x nat. Größe),
b) Krüppelform I (Vergröß. 1,2 fach)
c-e) Krüppelform II (Vergröß. 1,7 fach)
f-g) Krüppelform III (Vergröß. 1,8 bzw. 1,5 fach).

Abb. 21:

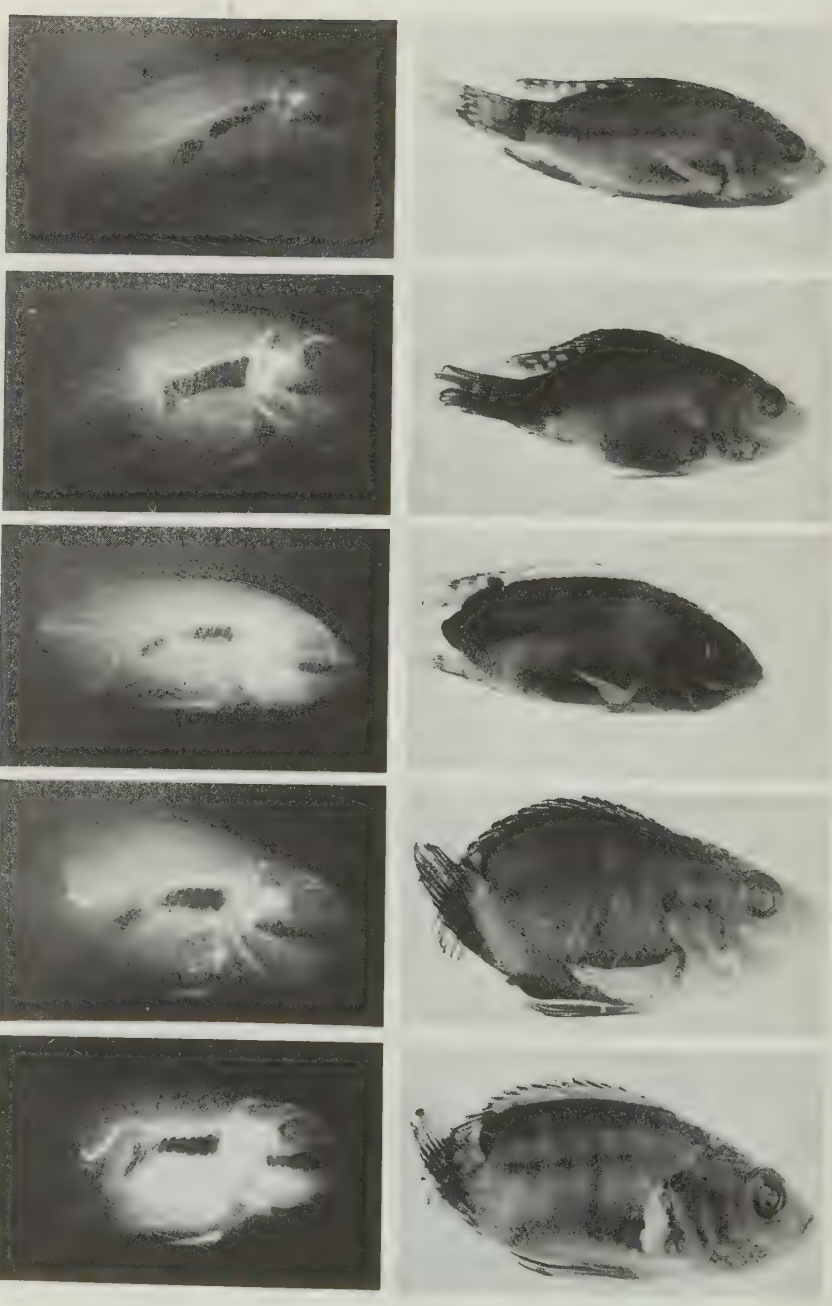
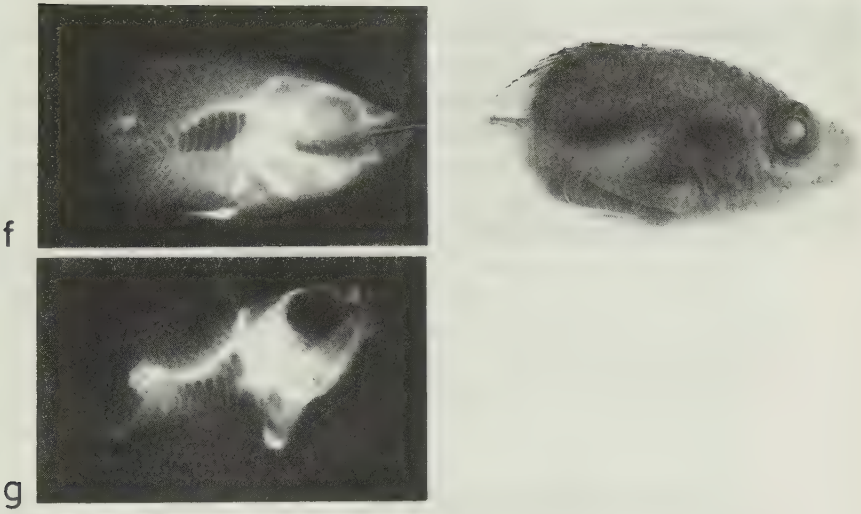


Abb. 21:



5. Verhalten der Krüppeltiere: Der Grad der Verkrüppelung wirkt sich in erster Linie auf die Schwimmbewegungen der Fische aus. Während zwischen Kontroll-Tieren und KF-I-Fischen noch kein deutlicher Unterschied besteht, sind die Krüppelformen der Gruppe II in ihren Wendungen eingeschränkt und weniger schnell. Die schwer mißgebildeten Tiere (III) "torkeln" durch das Wasser; ihre Bewegungen sind schwer behindert. Durch den Ausfall des hinteren Körperbereiches sind sie stark kopflastig geworden.
KF-I- und KF-II-Formen pflanzen sich weitgehend normal fort. Ihre Eizahl bzw. die Zahl der schwimmfähigen Larven zeigt gegenüber den Normal-Tieren noch keinen Unterschied. Die KF-III-Tiere jedoch können sich, infolge ihrer Verstümmelung, nicht mehr fortpflanzen. Durch das "torkelnde Schwimmen" sind sie unfähig, das für die Cichliden typische Balz- und Ablaichverhalten durchzuführen.

6. Aufzucht der F_1- und F_2-Generationen von verkrüppelten Fischen:

Um zu prüfen, ob sich die Defekte der Fische auch auf das Genom auswirken, habe ich von den Krüppelformen I und II je zwei F_1- und F_2-Generationen gezüchtet (310 F_1-Tiere, 240 F_2-Tiere). Bei der Entlassung aus dem Maul des Muttertieres (14. Tag nach dem Ablaichen), zeigten die F_1-Generationen völlig normalen Wuchs. Die Anzahl der Jungtiere unterschied sich nicht von der Zahl der Larven bei gesunden Fischen. Die F_1-Generationen pflanzten sich erneut fort und erzeugten wiederum normal entwickelte Tiere (F_2). Diese Versuche lassen darauf schließen, daß durch die Pestizide Bayluscid und Lebaycid hervorgerufene Körper- und Flossenmißbildungen der Elterntiere nicht genetisch fixiert wurden.

7. Wachstum der Krüppelformen: In Abb. 22 sind die Körperlängen von normalen und verkrüppelten Fischen nach 6 Monaten vergleichend dargestellt.

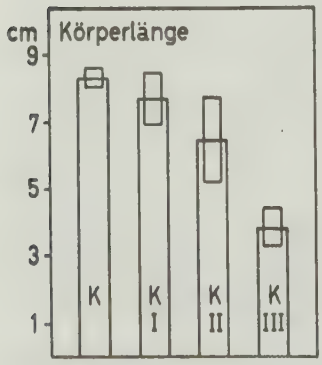


Abb. 22: Körperlänge von Kontrolltieren (K), leicht verkrüppelten (K-I), mittel (K-II) und schwer verkrüppelten Tieren (K-III) nach 6 Monaten. Die eingezeichneten Kästchen stellen die Standardabweichungen dar.

Bei den Kontroll-Tieren betrug sie im Durchschnitt 8,2 ± 0,3 cm (n = 7). Die KF-I-Tiere waren 7,6 ± 0,8 cm (n = 9) lang, die KF-II-Fische 6,4 ± 1,3 cm (n = 23) und die KF-III-Formen dagegen nur 3,8 ± 0,6 cm (n = 10). Zwischen den leicht

verkrüppelten Fischen (KF-I) und den Kontroll-Fischen (K) besteht noch kein signifikanter Unterschied ($t_9 = 2,1$; $p = 0,08$); zwischen den KF-II-, KF- III- und den Kontroll-Tieren ist der Wachstumsunterschied dagegen hochsignifikant ($t_{23} = 6,4$; $t_{10} = 20,6$; $p < 0,001$). Die Kontrollen sind am Ende des Versuchs nahezu 29 % bzw. 116 % größer als die Krüppelformen II und III.

8. Zahl der Krüppelformen und der abgestorbenen Eier bei verschiedenen Pestizid-Konzentrationen

Lebaycid: Innerhalb der 15-tägigen Nachbeobachtungszeit zählte ich bei den Tauch-Versuchen die verschiedenen Krüppelformen, die toten Eier und die normal entwickelten Tiere. Die Ergebnisse für die am 3., 4. und 5. Lebenstag (nach dem Ablaichen) durchgeführten Versuche sind in Tab. 10 und Abb. 23 zusammengefaßt. Die Werte sind in Prozent der getauchten Eier bzw. Larven angeführt.
Daraus geht hervor, daß sich aus 3 Tage (4 Tage) alten Eiern, bei einer Tauchkonzentration von 2000 ppm, durchschnittlich 9 % (9,4 %) KF-I-Tiere bzw. 25,4 % (11,9 %) KF-II-Tiere entwickeln. Mit steigender Konzentration geht die Zahl an KF-I- bzw. KF-II-Tieren auf Null zurück (5000 ppm). Hier treten nur noch KF-III-Tiere und tote Eier (KE) auf. Ab 4000 ppm konnten keine Normal-Entwicklungen mehr beobachtet werden. Eben geschlüpfte Embryonen (5. Tag nach dem Ablaichen) zeigen bei 200 ppm die höchste mittlere Anzahl an KF-I-Tieren (3,3 %); die KF-II-Formen erreichen ihr Maximum (20,8 %) bei 150 ppm und KF-III-Tiere (100 %) bei 300 ppm. Von 250 ppm an gibt es keine Normal-Entwicklung mehr (Abb. 24).

Tab. 10: Gesamtdarstellung über die Entwicklung von Krüppelformen (KF), abgestorbenen Eiern (KE) und normaler Entwicklung der Eier und Larven (NE) von Tilapia leucosticta (in Prozent der Eizahl bzw. Larven pro Versuchsansatz) nach Lebaycid-Tauchversuchen (60 Minuten). 1. Spalte = Konzentration, 2. Spalte = Alter der Eier bzw. Larven zum Zeitpunkt der Behandlung (in Tagen nach dem Ablaichen). KF-I, II, III = leichte, mittlere und schwere Verkrüppelungen. KE = keine Weiterentwicklung der Eier nach der Behandlung, NE = normale Weiterentwicklung der Eier und Larven.

Konz. ppm	Alter (Tage)	Eizahl	KF I	KF II	KF III	KE	NE
1000	3	30	-	-	-	16,6	83,4
1000	3	30	3,3	6,6	-	-	90,1
1000	3	40	2,5	-	-	7,5	90,0
1000	3	30	3,3	-	-	10,0	86,7
1000	3	30	3,3	3,3	3,3	20,0	63,4
1000	3	20	-	-	-	-	100,0
2000	3	30	16,6	30,0	16,6	10,0	26,7
2000	3	30	13,3	42,5	3,3	16,6	24,3
2000	3	40	7,5	15,0	10,0	12,5	55,0
2000	3	30	3,3	6,6	6,6	13,3	70,2
2000	3	30	3,3	13,3	3,3	20,0	63,4
2000	3	20	10,0	45,0	15,0	10,0	20,0
3000	3	30	-	3,3	33,3	63,3	-
3000	3	30	6,6	36,6	23,3	30,0	3,3
3000	3	40	12,5	20,0	20,0	47,5	-
3000	3	30	10,0	6,6	20,0	40,0	20,3
3000	3	30	-	3,3	36,6	60,0	-
3000	3	20	-	-	20,0	80,0	-
4000	3	30	-	3,3	43,3	53,3	-
4000	3	30	-	36,6	33,3	30,0	-
4000	3	40	-	7,5	30,0	62,5	-
4000	3	30	6,6	3,3	36,6	53,3	-
4000	3	30	-	-	53,3	46,7	-
4000	3	20	-	-	20,0	80,0	-
5000	3	30	-	-	50,0	50,0	-
500	4	30	-	-	-	-	100,0
500	4	30	-	-	-	16,6	83,4
1000	4	30	-	-	-	6,6	93,4
1000	4	30	-	-	6,6	10,0	83,4
1000	4	40	5,0	-	-	10,0	85,0
1000	4	25	-	-	-	8,0	92,0
1000	4	30	6,6	-	-	-	93,4
1500	4	30	-	6,6	3,3	6,6	83,5
2000	4	30	6,6	26,6	10,0	26,6	30,2
2000	4	25	4,0	8,0	8,0	8,0	72,0
2000	4	30	23,3	10,0	-	10,0	56,7
2000	4	30	3,3	10,0	33,3	53,3	-
2000	4	40	10,0	5,0	15,0	22,5	47,5
3000	4	25	-	24,0	32,0	16,0	28,0
3000	4	30	3,3	20,0	33,3	43,3	-
3000	4	30	-	3,3	43,3	50,0	3,3
3000	4	40	2,5	-	25,0	52,5	20,0
3000	4	30	3,3	20,0	26,6	40,0	30,1
4000	4	30	-	-	33,3	66,6	-
4000	4	40	-	2,5	35,0	62,5	-
4000	4	25	-	-	48,0	52,5	-
100	5	24	4,1	4,1	29,1		62,7
100	5	30	-	6,6	43,3		50,0
150	5	24	-	20,8	70,8		8,4
200	5	24	-	8,3	79,1		12,6
200	5	30	6,6	13,3	76,6		3,3
250	5	24	-	16,6	83,3		-
300	5	24	-	-	100,0		-

Tab. 10: Beschreibung siehe S. 46.

Bayluscid (WP): Hier sind die Ergebnisse ähnlich (Tab. 11; Abb. 23). Mit wachsender Konzentration steigt bei den 3 Tage alten und getauchten Eiern die Zahl der sich entwickelnden KF-I- bzw. KF-II-Tiere zunächst von Null (7 ppm) auf 7,9 % (10 ppm) bzw. 13,9 % (14 ppm) an und fällt bei 15 ppm auf Null bzw. 2,5 % zurück. Aus den Eiern, die am 4. Entwicklungstag getaucht wurden, entwickelt sich die höchste Zahl an KF-I- bzw. KF-II-Tieren (10,8 % bzw. 12,3 %) bei einer Konzentration von 10 ppm. Bei 3 bzw. 4 Tage alten Eiern entstehen nach den Tauchversuchen die meisten KF-III-Tiere (66,6 % bzw. 50 %) in 13,5 bzw. 13 ppm. Bei einer Konzentration von 14 ppm fallen nach den Versuchen 61,3 % bzw 65 % von den 3 bzw. 4 Tage alten getauchten Eiern aus. Eine normale Entwicklung ist bei 3 Tage alten Eiern von 15 ppm und bei 4 Tage alten Eiern von 13 ppm an nicht mehr möglich. Aus frisch geschlüpften Dottersack-Tieren (5. Tag), die bei einer Konzentration von 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm und 6 ppm getaucht wurden, entstehen durchschnittlich 2,5 %, 3,3 %, 1,6 % und 3,3 % Krüppelformen I bzw. 31,6 %, 70 %, 90 %, 80 % Krüppelformen III. KF-II-Tiere treten dagegen keine auf. Die Entwicklung zu normaler Körperform nimmt von 65,4 % bei 3 ppm bis auf 16,4 % (bei 6 ppm) ab (Abb. 24).

Tab. 11: Gesamtdarstellung über die Entwicklung von Krüppelformen (KF), abgestorbenen Eiern (KE) und normaler Entwicklung der Eier und Larven (NE) von Tilapia leucosticta (in Prozent der Ei- bzw. Larvenzahl pro Versuchsansatz) nach Bayluscid (WP)-Tauchversuchen (60 Minuten). Bezeichnungen wie in Tab. 10.

Tab. 11: Beschreibung Seite 48.

Konz. ppm	Alter (Tage)	Eizahl	KF I	KF II	KF III	KE	NE
8	3	30	-	10,0	3,3	-	86,7
8	3	35	5,7	5,7	2,8	25,7	60,0
8	3	30	6,6	-	-	23,3	70,1
8	3	30	10,0	16,6	6,6	30,0	36,8
8	3	30	6,6	6,6	3,3	16,6	66,9
8	3	30	-	10,0	3,3	13,3	73,4
9	3	30	-	10,0	6,6	30,0	53,4
9	3	30	20,0	-	16,6	26,6	36,8
9	3	30	3,3	16,6	13,3	30,0	36,8
9	3	30	6,6	10,0	3,3	6,6	73,5
9	3	25	16,0	-	-	16,0	68,0
9	3	30	-	16,6	6,6	20,0	56,8
9,5	3	30	-	10,0	30,0	50,0	10,0
9,5	3	30	6,6	13,3	16,6	40,0	23,5
10	3	30	-	6,6	16,6	56,6	20.2
10	3	40	15,0	17,5	12,5	37,5	17,5
10	3	35	-	5,7	11,4	54,2	28,5
10	3	30	3,3	33,3	13,3	3,3	46,6
10	3	25	12,0	-	8,0	28,0	52,0
10	3	30	3,3	10,0	30,0	53,3	3,3
10	3	30	26,6	-	23,3	26,6	29,5
10	3	30	3,3	10,0	33,3	26,6	26,8
11	3	30	3,3	20,0	20,0	46,6	10,0
11	3	25	12,0	-	16,8	52,0	20,0
11	3	30	6,6	10,0	20,0	63,3	-
11	3	30	-	3,3	40,0	16,6	40,1
11	3	30	3,3	3,3	43,3	43,3	6,8
11	3	30	3,3	20,0	30,0	36,6	10,1
11	3	30	3,3	26,6	30,0	40,0	-
12	3	40	-	20,0	25,0	52,7	2,5
12	3	35	-	2,8	11,4	60,0	25,7
12	3	25	8,0	-	16,0	56,0	20,0
12	3	30	-	-	60,0	40,0	-

ppm	Alter (Tage)	Eizahl	KF I	KF II	KF III	KE	NE
12	3	30	10,0	6,6	36,6	40,0	6,8
12	3	30	-	10,0	46,6	40,0	3,4
13	3	30	-	-	63,3	36,4	-
13	3	30	-	-	66,6	33,4	-
13,5	3	30	-	-	66,6	33,4	-
14	3	40	-	25,0	30,0	42,5	2,5
14	3	35	-	2,8	17,1	80,1	-
15	3	40	-	2,5	30,0	67,5	-
7	4	40	2,5	5,0	7,5	37,5	47,5
8	4	40	10,0	-	-	-	90,0
8	4	40	2,5	12,5	20,0	50,0	15,0
9	4	30	3,3	10,0	6,6	33,3	46,6
9	4	30	3,3	16,0	6,6	40,0	34,1
9	4	40	2,5	5,0	20,0	72,5	-
10	4	30	10,0	10,0	20,0	36,6	23,4
10	4	40	12,5	17,0	17,5	20,0	32,5
10	4	30	10,0	10,0	10,0	43,3	26,7
11	4	30	-	3,3	16,6	80,0	-
11	4	30	-	10,0	20,0	46,6	23,4
12	4	30	-	6,6	46,6	40,0	6,8
12	4	40	5,0	20,0	25,0	35,0	15,0
12	4	30	-	-	20,0	80,0	-
13	4	30	-	-	50,0	50,0	-
14	4	40	-	7,5	27,5	65,0	-
3	5	30	-	-	23,3		76,7
3	5	20	5,0	-	40,0		55,0
4	5	20	-	-	90,0		10,0
4	5	30	6,6	-	50,0		43,4
5	5	30	3,3	-	80,0		16,4
5	5	20	-	-	100,0		-
6	5	30	3,3	-	80,0		16,4

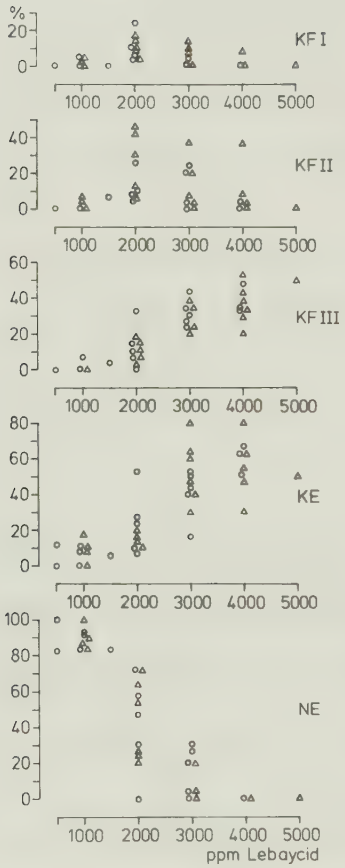


Abb. 23 a: Lebaycid-Tauchversuche mit 3 (Δ) bzw. 4 (O) Tage alten Eiern von Tilapia leucosticta. Darstellung der Entwicklung von Krüppelformen (KF), abgestorbenen Eiern und normaler Weiterentwicklung der Eier (in Prozent der Eier pro Versuchsansatz). Fielen mehrere Werte auf einen Punkt, wurde nur einer eingezeichnet. KF I, II, III = leichte, mittlere, schwere Krüppelformen. KE = keine Weiterentwicklung der Eier nach der Behandlung. NE = normale Weiterentwicklung der Eier zu Larven.

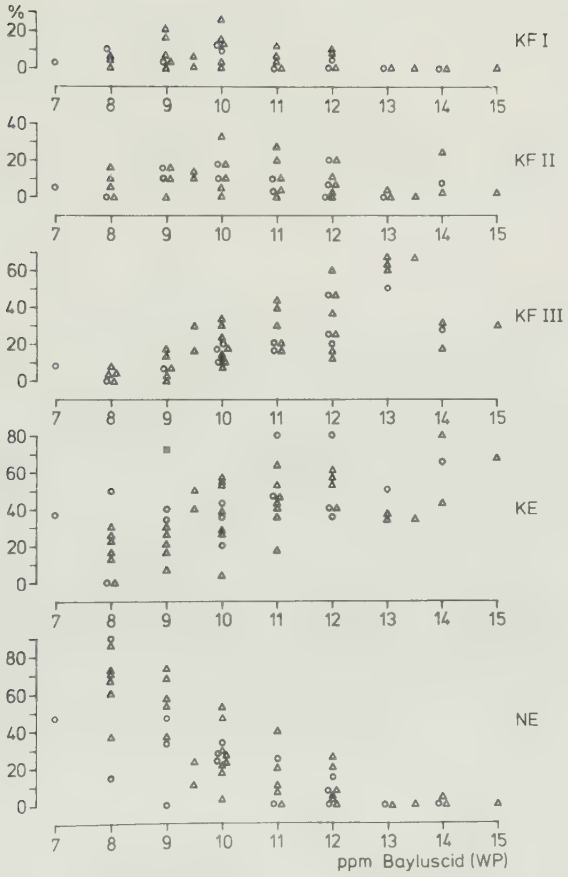


Abb. 23 b: Bayluscid (WP)-Tauchversuche mit 3 (Δ) bzw. 4 (o) Tage alten Eiern von Tilapia leucosticta. Darstellung von Krüppelformen (KF), abgestorbenen Eiern und normaler Weiterentwicklung der Eier (in Prozent der Eier pro Versuchsansatz). Fielen mehrere Werte auf einen Punkt, wurde nur einer eingezeichnet. Weitere Bez. wie in Abb. 23 a.

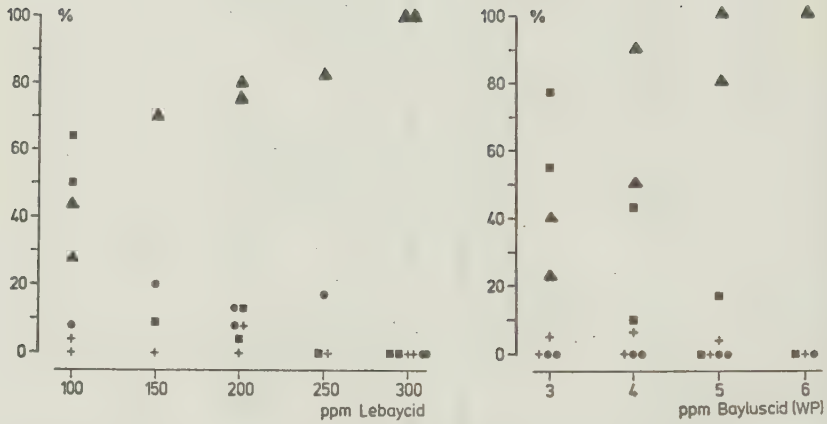


Abb. 24: Entwicklung von Krüppelformen (in Prozent der Tiere pro Ansatz) nach 60 minütiger Behandlung eben geschlüpfter Larven (5. Tag nach dem Ablaichen) von Tilapia leucosticta mit Bayluscid (WP) und Lebaycid. + = leichte, ● = mittlere, ▲ = schwere Verkrüppelung. ■ = normale Entwicklung.

VII. Tauchversuche bei Embryonen mit und ohne Eihülle (Tilapia leucosticta)

Es ist bekannt, daß die Eihülle den Embryo vor mechanischen Einflüssen schützt. Ob sie gegenüber den Pestiziden auch als chemische Barriere dient, sollte mit den folgenden Versuchen geklärt werden.

Mit Hilfe einer feinen Präpariernadel wurden Embryonen von Tilapia leucosticta zu Beginn des 4. Entwicklungstages unter dem Stereomikroskop von der Eihülle befreit (Abb. 25). In 5 verschiedenen Versuchen tauchte ich dann insgesamt 324 Embryonen ohne und 291 Embryonen mit Eihülle 60 Minuten lang in Bayluscid (WP)-Konzentrationen von 6 - 11 ppm. Als Kontrolle dienten 113 nicht getauchte Embryonen ohne und 118 nicht getauchte Embryonen mit Eihülle. Nach dem Versuch wurden die Embryonen bzw. Eier mit Aqua dest. abgespült und zur Nachbeobachtung von 20 Tagen in die Brutanlage zurückgebracht.

Auf die Parallel-Versuche mit Lebaycid habe ich verzichtet, da hier die toxische Wirkung am 4. und 5. Entwicklungstag sehr unterschiedlich ist. In entsprechenden Vorversuchen konnte gezeigt werden, daß bei einer Konzentration von 300 ppm die von der Eihülle befreiten Embryonen alle absterben, während sich die Embryonen mit Eihülle völlig normal weiterentwickeln.

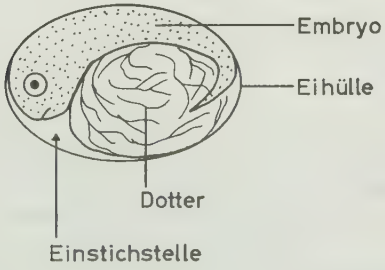


Abb. 25: 4 Tage alter Embryo von Tilapia leucosticta mit intakter Eihülle.

Ergebnisse

Die Versuche mit Bayluscid (WP) sind in Tabelle 12 dargestellt. Daraus geht klar hervor, daß die Mortalität bei Embryonen ohne Eihülle stets größer ist als mit Eihülle. In Abb. 26 habe ich als Beispiel Versuch 1 dargestellt; er zeigt den Verlauf an Ausfällen während der gesamten Beobachtungszeit. Damit ist der Beweis erbracht, daß die am 4. Entwicklungstag schon relativ dünn gewordene Eihülle bis zum Schlüpftag eine Barriere gegen das Bayluscid (WP) darstellt.

ohne Eihülle					mit Eihülle				
Vers. Nr.	ppm	n	Ausfälle bis 20. Tag	Anzahl d. Verkrüppelten	Vers. Nr.	ppm	n	Ausfälle bis 20. Tag	Anzahl d. Verkrüppelten
1	7	20	70,0%	15,0%	1	7	20	15,0%	-
	9	20	80,0%	10,0%		9	20	15,0%	25,0%
	11	20	100,0%	-		11	20	50,0%	5,0%
	0	20	20,0%	-		0	20	10,0%	-
2	7	23	78,2%	8,6%	2	7	12	-	-
	9	23	82,6%	4,3%		9	12	8,3%	8,3%
	11	23	100,0%	-		11	12	75,0%	16,6%
	0	23	13,0%	-		0	18	-	-
3	7	20	80,0%	10,0%	3	7	20	5,0%	-
	9	20	100,0%	-		9	20	10,0%	-
	11	20	100,0%	-		11	20	15,0%	-
	0	20	5,0%	-		0	30	-	-
4	6	25	84,0%	-	4	6	25	32,0%	-
	8	25	100,0%	-		8	25	60,0%	-
	11	25	100,0%	-		11	25	80,0%	-
	0	25	12,0%	-		0	25	12,0%	-
5	6	20	50,0%	10,0%	5	6	20	-	-
	8	20	45,0%	10,0%		8	20	5,0%	-
	10	20	75,0%	-		10	20	10,0%	-
	0	25	4,0%	-		0	25	-	-

Tab. 12: Darstellung der 5 Tauchversuche mit Embryonen von Tilapia leucosticta mit und ohne Eihülle. Behandlungskonzentration 6 - 11 ppm Bayluscid (WP).

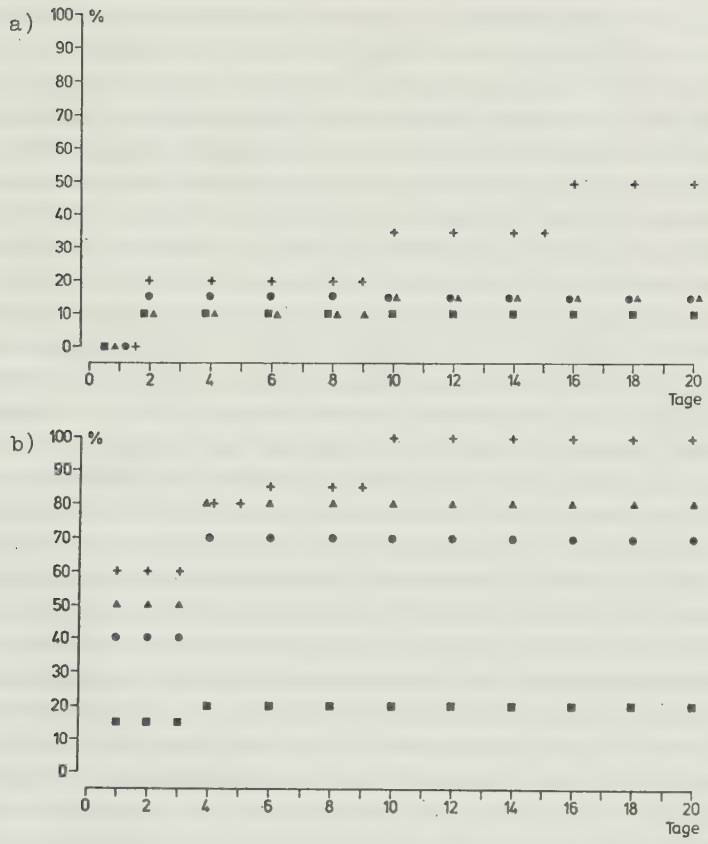


Abb. 26: Darstellung des Tauchversuchs Nr. 1 aus Tab. 12. Die Symbole geben die Ausfallraten (in Prozent der Tiere pro Versuchsansatz) während der 20 - tägigen Nachbeobachtungszeit an.
a) Embryonen mit Eihülle,
b) Embryonen ohne Eihülle.
● = 7 ppm, ▲ = 9 ppm, + = 11 ppm Bayluscid (WP).
■ = Kontrolle.

VIII. Diskussion

Die Bekämpfung der Onchocercose, der Malaria und der Bilharziose erfolgt heute in großem Umfang durch Vernichtung ihrer Vektoren, der im Wasser lebenden Insektenlarven und Schnecken. Neben mechanischen Methoden (Veränderung der Wasserläufe) steht die Behandlung mit Insektiziden (Larviziden) und Molluskiziden im Vordergrund. In keinem Fall wirken die ausgebrachten Substanzen selektiv, sondern greifen tief in das ökologische Gefüge der Gewässer ein (Zusammenfassung bei Onchocerciasis Control WHO, OCP/73,1, Annex III-3, 1973).
Die erstmalige Ausbringung von Bayluscid (1958) im Nairobi-Fluß in Kenia (Endkonzentration von 1 ppm während 12 Stunden), führte zu toxischen Auswirkungen in den Fisch-Populationen (Foster, 1962). Nach den Untersuchungen von Gillet u. Bruaux (1962) in der Rep. Kongo, und Webbe (1961, 1962) in Tanganjika, führte auch hier die Anwendung von Bayluscid (bis 1,5 ppm) innerhalb von 24 Stunden zu zahlreichen Fischsterben (Tilapia esculenta, Tilapia melanopleura, Protopterus aethiopicus, Clarias mossambicus, Astatoreochromis alluaudi, Haplochromis-, sowie Barbus-Arten). In den rhodesischen Flüssen hatte die Bekämpfung der Schnecken eine Vernichtung ganzer Fischpoulationen zur Folge (verschiedene Barbus-Arten, Clarias gariepinus), was in dem anschließenden Zeitraum von 2 - 3 Monaten zu einem übermäßigen Anstieg verschiedener Evertebraten (Cyclops, Anopheles, Culex, Chironomus) führte (Harrison, 1966). Entsprechende Freilanduntersuchungen mit Larviziden zur Bekämpfung der Mückenlarven, zeigten auch in den anderen Organismengruppen des Biotops Nebenwirkungen, nicht zuletzt in dem ökonomisch wichtigen Glied der Nahrungskette, den Fischpopulationen (Zusammenfassung bei Onchocerciasis Control, WHO, 1973).
Untersuchungen über die Auswirkungen dieser Substanzen auf Fischpopulationen müssen deshalb eine Schlüsselstellung einnehmen. Dabei sollten 1) Arten (oder verwandte Spezies) verwendet werden, die in den tropischen Gewässern als Nahrungsgrundlage der Bevölkerung dienen, 2) unter genau kontrollier-

baren Laborverhältnissen die Bedingungen im Freiland (v.a. Anwendung subletaler Dosen) simuliert werden und 3) die Auswirkungen auf Individuen aller Größen und Altersstufen (vom Ei- bis zum Adultstadium) untersucht werden. Alle drei Forderungen wurden mit den hier verwendeten Versuchsfischen Tilapia leucosticta und Herotilapia multispinosa erfüllt. Entscheidend für die Auswahl war die Möglichkeit der kontrollierten Aufzucht der "Maulbrüter-Jungen" in Brutapparaturen. Die Auswahl der beiden Präparate erfolgte nach den vorliegenden Freiland-Untersuchungen (Foster, 1962; Gillet u. Bruaux, 1962; Zusammenfassung bei Gönnert, 1962; Webbe, 1961, 1962; Post u. Garms,1966; Jung et al., 1960; Patterson u. von Windeguth, 1964; Blazquez, 1959). Danach beträgt die Anwendungskonzentration von Bayluscid im Wasser 0,4 - 1,0 ppm bei 8 h Einwirkung (Techn. Information, Bayer), nach Angaben der WHO (1973) 4 - 8 mg/l x h; Lebaycid wird als 2-%-Granulat in einer Menge von 0,5 g/m^2 je 10 cm Wassertiefe (Wirkstoff 0,1 ppm) ausgebracht (Techn. Information, Bayer). In Tab. 13 sind alle mir bekannten Toxizitätswerte aus LC-Versuchen für Bayluscid und Lebaycid aufgeführt. Da es sich hierbei um Fische handelt, die in den Anwendungsgebieten meist nicht heimisch sind, wurden zu Beginn der Untersuchungen die LC_{50}-Werte für Tilapia leucosticta und Herotilapia multispinosa für nahezu alle Altersstufen und Größenklassen ermittelt. Nur so war ein genaues Bild über die Auswirkung auf eine Population (bestehend aus verschiedenen Alter- und Größenklassen) zu erhalten. Bei Herotilapia multispinosa verwendete ich Fische von 8 - 83 mm und bei Tilapia leucosticta 10 - 110 mm Größe. Die Versuche bestätigten nicht nur die toxischen Wirkungen der Substanzen für diese Cichliden, sie zeigten ferner, daß Bayluscid bis zu 10-fach (und noch darüber) toxischer wirkt als Lebaycid, und die Jugendstadien stets am stärksten betroffen sind. Dies ist ein wichtiger Hinweis dafür, daß in Gebieten, in denen Cichliden wirtschaftlich gezüchtet werden, der Einsatz der Präparate keinesfalls in Nähe der Brutteiche erfolgen darf. Ähnliche Resultate fand Marchetti (1965) bei Regenbogenforellen nach Behandlung mit Nonylphenoläthoxylat.

Präparat	Fischart	Konzentration	Wirkung	Zeit	Literatur
Baytex	Fundulus chrysotus	5,0 ppm	LC_{100}	48 h	Patterson u. Windeguth, 1964
	Lepomis macrochirus	5,0 ppm	LC_{100}	48 h	"
	Lepomis microlophus	5,0 ppm	LC_{100}	48 h	"
	Chaenobryttus gul.	5,0 ppm	LC_{100}	48 h	"
	Platypoecilus mac.	10,0 ppm	LC_{100}	24 h	Post u. Garms, 1966
	Hemichromis bimac.	3,5 ppm	LC_{100}	2 h	"
S 1752	Cyprinus carpio (K_1)	5,0 - 10,0 mg/l	LC_0 - LC_{100}	48 h	Lüdemann u. Kayser, 1962
	Cyprinus carpio (K_2)	40,0 mg/l	LC_{100}	48 h	"
	Esox lucius	0,5 - 0,9 mg/l	LC_0 - LC_{100}	24 h	"
	Salmo irideus	0,2 - 0,7 mg/l	LC_0 - LC_{100}	24 h	"
	Lebistes reticulat.	2,0 - 6,0 mg/l	LC_0 - LC_{100}	48 h	"
Fenthion	Lebistes reticulat.	1,0 ppm	LC_0	48 h	Perkow, 1971
	Salmo gairdneri	0,9 ppm	LC_{50}	96 h	Johnson u. Mayer, 1972
	Lepomis macrochirus	1,4 ppm	LC_{50}	96 h	"
	Pimephales prom.	2,4 ppm	LC_{50}	96 h	"
Lebaycid	Oryzias latipes	2,5 ppm	LC_{50}	48 h	Nishiuchi u. Hashimoto, 1967
	Cyprinus carpio	2,0 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Cyprinus auratus	1,9 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Lebistes reticulat.	1,0 - 10,0 ppm	LC_{50}	48 h	Schrader, 1963
	Tilapia sp.	1,0 - 5,0 ppm	LC_{50}	48 h	Webbe, 1961
	Lebistes reticulat.	1,0 - 10,0 ppm	LC_0 - LC_{100}	48 h	Jung u.a., 1960
Bayer 29493	Pimephales prom.	3,2 - 3,5 ppm	Tlm	96 h	Pickering u. Henderson, 1966
Tech. 93 %	Lepomis macrochirus	3,1 ppm	Tlm	96 h	"
	Lebistes reticulat.	3,1 ppm	Tlm	96 h	"
Bayluscid	Carassius auratus	0,297 ppm	LC_{50}	48 h	Marking u. Hogan, 1967
	Cyprinus carpio	0,235 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Ictalurus melas	0,096 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Lepomis macrochirus	0,082 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Salmo gairdneri	0,050 ppm	LC_{50}	48 h	"
	Phoxinus laevis	0,220 mg/l	Kritische	-	Denzer, 1961
	Rhodeus amarus	0,220 mg/l	Schwelle	-	"
	Petromycon planeri	0,500 mg/l	"	-	"
	Trutta iridea	0,220 mg/l	"	-	"
	Salmo gairdneri	0,050 ppm	LC_{50}	96 h	Johnson u. Mayer, 1972
	Lepomis macrochirus	0,068 ppm	LC_{50}	96 h	"
	Pimephales promelas	0,102 ppm	LC_{50}	96 h	"
	Ictalurus punctatus	0,082 ppm	LC_{50}	96 h	"
	Micropterus salmoides	0,060 ppm	LC_{50}	96 h	"
	Carassius auratus	0,500 ppm	LC_{100}	48 h	Perkow, 1971

Tab 13: Zusammenfassung der aus der Literatur bekannten Ergebnisse zur Toxizität von Bayluscid und Lebaycid. Tlm = median tolerance limit.

Die erzielten Ergebnisse konnte ich durch biologische Vergiftungsbilder ergänzen, die so typisch sind, daß sie zum Erkennen von Pestizid-Vergiftungen herangezogen werden können. Nach Lebaycid-Vergiftung wurden ähnliche Symptome bereits von Post u. Garms (1966) an Tilapia melanopleura, Synodontis nigriventris, Hemichromis bimaculatus, Puntius calipterus, Xiphophorus maculatus, und von Lüdemann u. Kayser (1962) an Cyprinus carpio, Esox lucius, Salmo gairdneri und Poecilia reticulata beschrieben. Versuche mit dem Molluskizid Pentachlorphenol (einem Vorläufer des Bayluscid) weisen darauf hin, daß die Fische (Poecilia reticulata, Cyprinus carpio, Salmo gairdneri) an einer Verschleimung des respiratorischen Epithels zugrunde gehen (Weber, 1965).
Unter Freilandbedingungen muß der Einsatz der Präparate eine bestimmte Zeit lang erfolgen bzw. wiederholt werden. Dabei darf die Substanzmenge (Verdünnung) für die Fische nicht bedrohlich sein. Unter simulierten Freiland-Bedingungen bedeutet dies Langzeitversuche mit wiederholten, niedrigen subletalen Dosen. Die Konzentrationen von Bayluscid betrugen 33,3% - 34,4 % des entsprechenden 96 h-LC_{50}-Wertes; während des 63-tägigen Versuches, erneuerte ich alle 4 Tage die Testflüssigkeit. Da die Jugendstadien besonders gefährdet sind, wählte ich für diese Versuche 13,3 - 13,8 mm große und 3 - 4 Wochen alte Fische, deren Hauptwachstumsschub noch bevorstand. Es zeigt sich, daß hierbei das Lebaycid die größere Wirkung entfaltet. Im Vergleich zu den Kontrollen ergeben sich Unterschiede im Verhalten, im äußeren Erscheinungsbild, der Mortalität und vor allem aber in der Gewichtszunahme und im Längenwachstum. Alle mit Lebaycid behandelten Fische bleiben im Gewicht und im Längenwachstum zurück.
Auch die adulten Fische sind beim Einsatz der Pestizide wiederholten Belastungen ausgesetzt. Die genaue Kontrolle derartiger Behandlungen (während 141 Tagen, ein Mal pro Woche mit einer subletalen Dosis von 0,3 ppm Bayluscid bzw. 143 Tagen, mit 7 ppm Lebaycid) an individuell markierten Fischen ergab zwar kaum eine Beeinträchtigung der Körper- und Gesamtlänge, jedoch wieder große Einbußen bei der Gewichtszunahme.

Die männlichen und weiblichen Fische blieben nach Bayluscid- bzw. Lebaycid-Behandlung um 9,8 % bzw. 22,2 % hinter den Gewichtskontrollen zurück. Für eine große Fischpopulation gesehen, ist dies ein beträchtlicher Mengenverlust. Über ähnliche Ergebnisse berichten Johnson u. Mayer (1972). Sie fanden ferner an Pimephales promelas (Cyprinidae) nach Behandlung mit Carbaryl (subletale Dosis 680 ppb) eine verminderte Lebensdauer. Mollienisia latipinna, die 34 Wochen lang einer Konzentration von 0,75 ppb Dieldrin ausgesetzt waren, zeigten ein verringertes Wachstum und eine geringere Fortpflanzungsrate. Dasselbe stellte Spehar (1976) an Jordanella floridae (Cyprinodontidae) nach Behandlung in 31 ppb $CdCl_2$- und in 139 ppb $ZnSO_4$-Lösung fest. Bei Regenbogenforellen (Salmo gairdneri) führten Konzentrationen über 0,12 ppb Dieldrin ebenfalls zu einer Wachstumsbeeinträchtigung. Auch Crandall u. Goodnight (1962) konnten ein langsameres Wachstum und eine höhere Mortalitätsrate bei Poecilia reticulata nach einem 90 Tage dauernden Versuch mit subletalen Konzentrationen von 2 - 5 ppm Bleinitrat, 5 - 10 ppm hydratisiertem Zinksulfat und 0,5 ppm Kalium-Pentachlorphenol nachweisen (Zusammenfassungen bei Holden, 1972; Sprague, 1971, 1976 und Rosenthal u. Alderdice, 1976).

Ganz besonders problematisch ist der Einsatz von Pestiziden während der Brutzeit der Fische. Dies geht bereits aus der ersten Versuchsserie hervor. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß Fischeier gegenüber Pestiziden widerstandsfähiger sind als die adulten Fische. So ermittelte Sigloch (1976) für Forellensetzlinge (Salmo gairdneri, Größe 3 - 3,5 cm) mit Pomuran einen 96 h-LC_{50}-Wert von 0,8 ppm, während die Eier im Augpunktstadium bei 100 ppm nur zu 6 % ausfielen. Auch bei Rogor, Domatol-Spezial und Benomyl waren die Setzlinge stets empfindlicher als die Eier. Für Karpfeneier stellten Iyatomi et al. (1958) Tlm-Werte von 19,9 mg/l und für Kleinfische (2 - 3 Zoll) von nur 0,005 mg/l fest.

Da ohne erfolgreiche Brut keine Kontinuität in einer Fischpopulation zustande kommt, ja sogar eine Entvölkerung der Gewässer die Folge ist, habe ich befruchtete Eier und Larven

von Tilapia leucosticta in Pestizid-Lösungen bzw. Emulsionen kurzfristig getaucht und damit die möglichen Freilandsituationen simuliert. Durch die künstliche Aufzucht der Fische erhielt ich sodann Aufschluß über die Auswirkungen der Vergiftungen. In Einzelgruppen wurden jeweils 20 - 40 Eier (3500 Stück) oder Larven bzw. frühe Jugendstadien (5000 St.) 60 Minuten lang einem der beiden Präparate ausgesetzt und ihre Weiterentwicklung registriert. Die ersten Ergebnisse bestätigten auch hier die geringe Empfindlichkeit der noch in den Eihüllen eingeschlossenen Embryonen (Alter 3 Tage, LC_{50}-Werte 2300 - 3100 ppm für Lebaycid und 8,4 - 11,3 ppm bei Bayluscid). Sofort nach dem Schlüpfen stieg die Empfindlichkeit sprunghaft an. Am Ende des Dottersackstadiums lagen die entsprechenden Werte bei 31 - 46 ppm (Lebaycid) bzw. 1,5 ppm (Bayluscid). Bis zum 47. Tag stieg die Empfindlichkeit der Jungfische weiter bis auf 12 ppm bzw. 0,8 ppm an.
Aus den"getauchten" Eiern bzw. Dottersackstadien entwickelten sich Krüppelformen. Bei den bereits geschlüpften Fischen beobachtete ich Epithelablösungen und Nekrosen im abdominalen Bereich. Aber auch aus den behandelten Eiern schlüpften Krüppelformen mit schweren Verkrümmungen der Wirbelsäule. Ähnliche Krüppelbildungen sind aus den Untersuchungen von Niimi u. La Ham (1975) bekannt. Eine mehrtägige Einwirkung von Selendioxid-Lösungen auf Eier und Larven von Brachydanio rerio (Zebrafisch) führte hier ebenfalls zu Verkrümmungen der Wirbelsäule in der Abdominalregion. Die von mir verwendeten Substanzen wirkten nicht mehrtägig, sondern nur sehr kurzzeitig auf die Eier bzw. Fischlarven ein. Dennoch traten bereits irreversible Schädigungen im Verlauf der Entwicklung auf. Eine Zusammenfassung über derartige Mißbildungen nach Pestizideinwirkung geben erstmals Rosenthal u. Alderdice (1976). Über die möglichen Mechanismen berichten Mehrle u. Mayer (1975). Sie untersuchten 7 - 15 Tage alte Larven von Salvelinus fontinalis (Bachsaibling), die noch vor dem Schlüpfen aus den Eihüllen mit Toxaphen behandelt wurden und stellten eine signifikante Veränderung des Kollagengehalts im Körper

fest. Auch die Konzentrationen von Kalzium und Phosphor waren verändert. Es ist möglich, daß nach der Vergiftung eine Störung der Kollagensynthese vorliegt. Schwerste Mißbildungen stellten sich bei meinen Versuchen stets ein, wenn die Embryonen bzw. Fischlarven in der Zeitspanne vom 3. bis zum 7. Tag nach der Befruchtung in die Pestizidlösungen bzw. -emulsionen getaucht wurden. Erfolgten die Tauchversuche dagegen an späteren Tagen, so sank die Zahl an Krüppelformen erheblich ab. Dies könnte eine Folge der bereits zunehmenden Verknöcherung der Wirbelsäule sein.
Die bei Freilandeinsätzen vorgeschriebenen niedrigen Konzentrationen für Bayluscid (0,4 - 1,0 ppm) können demnach die Tilapien-Eier kaum gefährden, jedoch für die heranwachsenden Larven schon kritisch sein. Die Einwirkung von Lebaycid-Konzentrationen (nach Vorschrift) auf Eier, Larven und Jungfische von Tilapia leucosticta ist dagegen ungefährlich.
Die nur wenig empfindlichen Eistadien legten die Frage nahe, ob die Eimembran die den Embryo schützende Barriere darstellt. Es gelang mir, über 300 Embryonen operativ aus der Eihülle zu befreien und damit entsprechende Tauchversuche mit Bayluscid (6 - 11 ppm) durchzuführen. Die Kontrollen wurden noch in ihrer Eihülle in Bayluscid getaucht. Zum Vergleich untersuchte ich die Entwicklung von weiteren Gruppen mit und ohne Eihüllen (nicht getaucht). Die Ergebnisse waren klar: Die Embryonen sind ohne Eihülle den Pestiziden gegenüber hochempfindlich und sterben bei 7 ppm zu 76 %. Mit ihrer Eihülle kommt es dagegen im Mittel nur zu 6,6% tödlichen Ausfällen. Da die Operation erst am 4. Entwicklungstag erfolgte (24 h vor dem Schlüpfen), liegt während der Gifteinwirkung schon eine sehr dünne, im Abbau begriffene Eihülle, vor. Es besteht somit kein Zweifel, daß die Eimembran die Empfindlichkeit der Embryonen gegenüber den Pestiziden herabsetzt. Akiyama (1970) konnte an Eiern und Larven der Medaka (Oryzias latipes; Cyprinodontidae) nach Einwirkung von Quecksilbersalzen ebenfalls eine Schutzfunktion der Eihülle feststellen. Ähnliche Ergebnisse liegen von Niimi u. La Ham (1975) an Eiern und Larven des Zebrafisches (Brachydanio rerio) nach Selen-

dioxid-Behandlung vor. Zweifelhaft erscheinen mir die Untersuchungen von Skidmore (1966), der bei 15 und 25 Stunden alten Embryonen des Zebrafisches (Brachydanio rerio) in Zinksulfatlösung (20 ppm Zn) eine größere Überlebensdauer erzielte, als bei gleichaltrigen Embryonen mit intakter Eihülle.

Der Einsatz von Bayluscid kann zum Zeitpunkt des Schlüpfens und während der anschließenden Tage bei unvorschriftsmäßig hohen Konzentrationen (1 - 2 ppm, kurzfristig) zum Verlust einer ganzen Generation führen. Die Ausbringung der Giftstoffe in Fischbrutgebieten , sollte in dieser empfindlichen Phase (während der Hauptlaichzeit, bis etwa 4 Wochen nach der Befruchtung der Eier) in der die Jungfische auch noch nicht abwandern können, nach Möglichkeit ganz vermieden werden.

IX. Zusammenfassung

1. In statischen Kurzzeitversuchen wurden 48 h- und 96 h-LC_{50}-Werte der Präparate Lebaycid, Bayluscid (WP) und Bayluscid (EC) von Tilapia leucosticta und Herotilapia multispinosa für nahezu alle Altersstufen und Größenklassen (10 - 110 mm bzw. 8 - 83 mm) ermittelt. Dabei erwiesen sich die Jugendstadien stets als besonders empfindlich. Bayluscid wirkte mindestens 10 mal toxischer als Lebaycid.

2. In Langzeitversuchen (63 Tage) wurden 3 - 4 Wochen alte Tilapia leucosticta (Größe 13,3 - 13,8 mm) mit subletalen Dosen von Lebaycid (1 ppm) und Bayluscid (WP) (0,15 ppm) behandelt. Dabei war die Mortalitätsrate der mit Lebaycid behandelten Fische stets am größten (38 %); der entsprechende Wert für Bayluscid betrug 18 %, bei der Kontrolle 16 %. Gegenüber den Kontrollen blieben die mit Lebaycid behandelten Fische um 31 %, die mit Bayluscid behandelten um 9 % zurück; der Unterschied in der Gewichtszunahme betrug bei ersteren 198 %, bei letzteren 45 %.

3. Nach periodischer Einwirkung subletaler Dosen (in 141 Tagen ein Mal pro Woche, 0,3 ppm Bayluscid (WP) bzw. in 143 Tagen, 7 ppm Lebaycid) auf adulte Tilapia leucosticta, verringerte sich die Körper- bzw. Gesamtlänge der Fische kaum; im Gewicht blieben die Lebaycid-Fische jedoch um 22 % gegenüber den Kontrollen zurück.

4. 60 Minuten dauernde Behandlung von Eiern oder Jugendstadien mit Bayluscid (WP) und Lebaycid (Tauchversuche) zeigte die geringe Empfindlichkeit der noch in den Eihüllen eingeschlossenen Embryonen (Alter 3 Tage, LC_{50} = 11,3 ppm Bayluscid bzw. 3100 ppm Lebaycid); sofort nach dem Schlüpfen stieg die Empfindlichkeit sprunghaft an (Alter 5 Tage - Schlüpftag, LC_{50} = 3,3 ppm Bayluscid bzw. 130 ppm Lebaycid). Nach dem Dottersack-Stadium (14. Tag nach dem Ablaichen) lagen die entsprechenden Werte bei 1,5 ppm (Bayluscid) bzw. 31 ppm (Lebaycid).

5. Nach den Tauchversuchen wurden die "Maulbrüter"-Eier bzw. -larven in die Brutanlagen gebracht, um die weitere Entwicklung zu registrieren. Aus den getauchten Eiern bzw. Dottersack-Stadien entwickelten sich Krüppelformen verschiedenen Grades: Verkrümmung der Wirbelsäule, mißgebildete Schwanzflosse, Fehlen der Schwanzflosse oder Fehlen der Schwanz- und Afterflosse. Die besonders schwer mißgebildeten Tiere konnten sich nicht mehr fortpflanzen. Zuchtversuche mit verschiedenen Krüppelformen ergaben, daß die durch die beiden Pestizide hervorgerufenen Körper- und Flossenmißbildungen nicht genetisch fixiert waren. Das Wachstum der Krüppelformen war gegenüber den Kontrollen stark gehemmt.

6. Tauchversuche mit Embryonen, denen die Eihülle operativ entfernt wurde, zeigten, daß die Eimembran die Embryonen gegenüber den Pestiziden schützt. Die Mortalität der Embryonen ohne Eihülle betrug bei 7 ppm (Bayluscid, 60 Minuten) 76 %, mit der Eihülle dagegen nur 6,6 %.

X. Literatur

Anderson, R.S. (1970): Effects of rotenone on zooplankton communities and a study of their recovery patterns in two mountain lakes in Alberta. J. Fish. Res. Bd. Can. 27, 1335.

Akiyama, A. (1970): Acute toxicity of two organic mercury compounds to the teleost, Oryzias latipes, in different stages of development. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 36, 563 - 570.

Bayer (1970): BAYLUSCID (Bayer 73) - Technische Information. Bayer Leverkusen, August.

Bayer (1970): BAYTEX (Bayer 29493, S 1752) - Technische Information. Bayer Leverkusen, August.

Breitig, G., Tümpling, W. (1970): Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung Bd. II, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

Blázquez, J. (1959): The residual insecticidal effect of Bayer compound S-1752 (Bayer 29493) in laboratory test. J. econ. Entomol. 52 (6), 1096 - 1099.

Cavalli-Sforza, L. (1969): Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Cook, S.F., Moore, R.L. (1969): The effects of a rotenone treatment on the insect fauna of a california stream. Trans. Amer. Fish. Soc. 98, 539.

Crandall, C.A., Goodnight, C.J. (1962): Effects of sublethal concentrations of several toxicants on growth of the common guppy, Lebistes reticulatus. Limnol. Oceanogr. 7, 233 - 239.

Denzer, H.W. (1961): Merkblatt über die Schädigung der Fischerei durch Abwässer. I. Schwellenwerte für Fische und Fischnährtiere. Landesanstalt f. Fischerei, Nordrhein-Westfalen.

Doudoroff, P., Anderson, B.G., Burdick, G.E., Galtsoff, P.S., Patrick, R., Strong, E.R., Surber, E.W., van Horn, W.M. (1951): Bioassay methods for the evaluation of acute toxicity

of industrial wastes to fish. Sewage ind. Wastes 23 (11), 1380 - 1397.

Foster, R. (1962): Weitere Beobachtungen bei Versuchen mit Bayluscid gegen ostafrikanische Schnecken. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 76 - 85.

Gillet, J., Bruaux, P. (1962): Versuche mit Bayluscid (Bayer 73) im Labor und Freiland. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 71 - 75.

Goodman, J.R. (1951): Toxicity of zinc for rainbow trout. Calif. Fish Game 37, 191 - 194.

Gönnert, R. (1962): Bayluscid, ein neues Mittel zur Bekämpfung medizinisch wichtiger Süßwasserschnecken. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 4 - 25.

Harrison, A.D. (1966): The effects of Bayluscid on gastropod snails and other aquatic fauna in Rhodesia. Hydrobiologia 28, 371.

Holden, A.V. (1962): The effects of pesticides on life in freshwaters. Proc. R. Soc. Lond. B 180, 383 - 394.

Hulbert, S.H. (1975): Secondery effects of pesticides on aquatic ecosystems. Residue Reviews 57, 81 - 148.

Iyatomie, K., Tamura, T., Itazawa, Y. (1958): Toxicity of endrin to fish. Prog. Fish. Cult. 20 (4), 155 - 162.

Johnson, W.W., Mayer, F.L. (1972): Pesticides and the aquatic environment. Miss. Acad. Sci., Proc. Symp. Pest Pest. 1, 21 - 37.

Jung, H.F., Kükenthal, H., Technau, G. (1960): Baytex (S 1752, Bayer 29493), ein neues Hygiene-Insektizid aus der Gruppe der mindertoxischen Phosphorsäureester. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 13 (1), 13 - 43.

Kaemmerer, K., Buntenkötter, S. (1973): The problem of residues in meat of edible domestic animals after application or intake organophosphate esters. Residue Reviews 46, 1 - 240.

Lüdemann, D., Kayser, H. (1962): Die toxische Wirkung des insektiziden Wirkstoffes S 1752 (Baytex, Lebaycid) auf Tiere des Süßwassers. Z. angew. Zool. 49 (4), 447 - 463.

Mann, H. (1975): Der Goldorfentest. Deutscher Vorschlag zur Prüfung der Wirkung von chemischen Stoffen auf Fische. Vom Wasser 44, 1 - 13.

-------- (1976): Fischtest mit Goldorfen zur vergleichenden Prüfung der akuten Toxizität von Wasserinhaltsstoffen und Abwässern - Praktische Erfahrungen aus drei Ringtesten. Z. f. Wasser- und Abwasser-Forschung 9, 103 - 109.

Marchetti, R. (1965): The toxicity of nonyl-phenol-ethoxylate on the developmental stages of the rainbow trout, Salmo gairdneri, Richardson. Ann. appl. Biol. 55, 425 - 430.

Marking, L.L., Hogan, J.W. (1967): Investigation in fish control. 19. Toxicity of Bayer 73 to fish. United States Department of the Interior, Bureau of Sport Fish. Wildl. Resource Public. 36, Washington, April.

Mehrle, P.M., Mayer, F.L. (1975): Toxaphene effects on growth and bone composition of Fathead Minnows, Pimephales promelas. J. Fish. Res. Bd. Can. 32 (5), 593 - 598.

Mount, D.J. (1962): Chronic effects of endrin on bluntnose minnows and guppies . U. S. Fish. Wildl. Serv. Res. Rep. 58, 1 - 38.

Niimi, A.J., La Ham, Q.N. (1975): Selenium toxicity on the early life stages of Zebrafish (Brachydanio rerio). J. Fish. Res. Bd. Can. 32 (6), 803 - 806.

Nishiuchi, Y., Hashimoto, Y. (1967): Toxicity of pesticide ingredients to some fresh water organisms. Botyu-Kagaku 32, 5 - 11.

Patterson, R.S., von Windeguth, D.L. (1964): The effects of Baytex on some aquatic organisms. Mosquito News 24, 46 - 49.

Perkow, W. (1974): Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Pickering, Q.H., Henderson, C. (1966): Acute toxicity of some important petrochemicals to fish. J. Wat. Pollut. Control Fed. 38, 1419 - 1428.

Post, A., Garms, R. (1966): Die Empfindlichkeit einiger tropischer Süßwasserfische gegenüber DDT und Baytex (Fenthion). Angew. Zool. 53, 481 - 494.

Rosenthal, H., Alderdice, D.F. (1976): Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. J. Fish. Res. Bd. Can. 33, 2047 - 2065.

Schrader, G. (1963): Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäure-Ester. Verlag Chemie G.m.b.H., Weinheim, Bergstraße.

Sigloch, W. (1976): Freiland- und Laboratoriumsuntersuchungen über die Toxizität der Pflanzenschutzmittel Rogor, Benomyl, Pomuran und Domatol-Spezial auf Süßwasserfische (Salmo gairdneri, Cyprinus carpio, Idus idus). Dissertation, Tübingen.

Spehar, R.L. (1976): Cadmium and zinc toxicity to flagfish, Jordanella floridae. J. Fish. Res. Bd. Can. 33, 1939 - 1945.

Sprague, J.B. (1969): Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. Water Res. 3, 793 - 821.

------- (1970): II. Utilizing and applying of bioassay results. Water Res. 4, 3 - 32.

------- (1971): III. Sublethal effects and "safe" concentrations. Water Res. 5, 245 - 266.

------- (1976): Current status of sublethal tests of pollutants on aquatic organisms. J. Fish. Res. Bd. Can. 33, 1988 - 1992.

Skidmore, J.F. (1966): Resistance to zinc sulphate of Zebrafish (Brachydanio rerio) embryos after removal or rupture of the outer egg membrane. J. Fish. Res. Bd. Can. 23 (7), 1037 - 1043.

Webbe, G. (1961): Field trials of phosphoric acid esters as larvicides and their toxicity to fish. Ann. trop. Med. Parasitol. 55, 187 - 191.

------- (1961): Laboratory and field trials of a new molluscicide, Bayer 73, in Tanganyika. Bull. Wld. Hlth. Org. 25, 525 - 531.

Webbe, G. (1962): Feldversuche mit dem Molluskizid Bayer 73 (Bayluscid) in Tanganyika. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 86 - 92.

Weber, E. (1965): Einwirkung von Pentachlorphenolnatrium auf Fische und Fischnährtiere. Biolog. Zentralblatt 84, 81 - 93.

Weiss, C.M., Botts, J.I. (1957): Factors affecting the response of fish to toxic materials. Sewage ind. Wastes 29, 810 - 818.

W H O (1973): Onchocerciasis control in the Volta River Basin area. Annex III-3: The control of Simulium damnosum and the prevention of environment contamination; technical criteria for the selection of insecticides. OCP/73,1, Genf.

W H O (1973): Schistosomiasis Control. Wld. Hlth. Org. techn. Rep. Ser., Nr. 515, Geneva.

Anschrift: Robert Paflitschek, Institut für Biologie III, Lehrstuhl Zoophysiologie, Abt. Physiolog. Ökologie 7400 Tübingen 1, BRD

Lebenslauf

Name:	Robert Paflitschek
Geburtstag:	5. 6. 1949
Geburtsort:	Balingen
Eltern:	Robert Paflitschek Fridl Paflitschek (geb. Sickinger)
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	verheiratet seit 26. 9. 1975 mit Hella Paflitschek (geb. Ritter)
Wohnort:	7410 Reutlingen 3 (Ohmenhausen) Brühlstr. 21
Schulausbildung:	1956 - 1960 Kath. Bekenntnisschule Balingen, 1960 - 1968 Gymnasium Balingen, Abitur am 19. 6. 1968
Studium:	Vom WS 68/69 bis WS 73/74 studierte ich an der Universität Tübingen die Fächer Biologie und Chemie. Abschluß des Studiums durch die Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien im WS 73/74.
Promotion:	"Untersuchungen über die toxische Wirkung von Bayluscid und Lebaycid auf Ei-, Jugend- und Adultstadien der Buntbarsche Tilapia leucosticta (Trewavas, 1933) und Herotilapia multispinosa (Günther, 1898)" vom WS 73/74 bis WS 76/77 im Institut für Biologie III, Lehrstuhl Zoophysiologie, Abteilung Physiologische Ökologie, unter Anleitung von Prof. Dr. E. Kulzer.

Akademische Lehrer

Biologie:	Prof. Dr. E. Bünning
	Prof. Dr. K.G. Grell
	Prof. Dr. W. Harder
	Prof. Dr. O. Klee
	Prof. Dr. E. Kulzer
	Prof. Dr. K. Mägdefrau
	Prof. Dr. H. Metzner
	Dr. G. Mickoleit
	Prof. Dr. F.P. Möhres
	Prof. Dr. H. Peters
	Prof. Dr. V. Schwartz
	Prof. Dr. B. Schwemmle
Chemie:	Prof. Dr. E. Bayer
	Dr. J. Gelinek
	Prof. Dr. G. Kortüm
	Prof. Dr. D. Krug
	Prof. Dr. E. Lindner
	Prof. Dr. H. Mauser
	Prof. Dr. H. Meier
	Prof. Dr. E. Müller
	Prof. Dr. D. Oelkrug
	Prof. Dr. A. Rieker
	Prof. Dr. W. Rüdorff
	Prof. Dr. H. Stegmann
Physik:	Prof. Dr. H. Krüger
	Prof. Dr. H. Seiler
Mathematik:	Prof. W. Schweizer